

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Mia Matošević

**UTJECAJ KOLIČINE OBORINA I BROJA SUNČANIH DANA U TRI
UZASTOPNE GODINE BERBE NA SADRŽAJ TVARI BOJE I AROME U
BIJELIM VINIMA ĐAKOVAČKOG VINOGRJA MANDIĆEVAC**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, srpanj, 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za prehrambeno inženjerstvo
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Tehnologija vina

Tema rada je prihvaćena na III. Izvanrednoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2016./2017. održanoj 3. srpnja 2017.

Mentor: izv. prof. dr.sc. Anita Pichler

Utjecaj količine oborina i broja sunčanih dana u tri uzastopne godine berbe na sadržaj tvari boje i arome u bijelim vinima đakovačkog vinogorja Mandićevac

Mia Matošević, 361-DI

Sažetak: Aroma vina predstavlja kemijski kompleks koji sadrži preko tisuću hlapljivih spojeva, na osnovu kojih se može odrediti i kvaliteta vina, a igra i veliku ulogu kod odabira vina od strane potrošača. Dio tih spojeva potječe od same sorte grožđa, dok se ostali oslobađaju tijekom procesa fermentacije i tijekom odležavanja i dozrijevanja vina.

Dosadašnja istraživanja utvrdila su pozitivan utjecaj umjerene konzumacije crnih vina na ljudsko zdravlje zbog većeg sadržaja polifenola. Međutim, novija istraživanja pokazuju da polifenoli u bijelim vinima imaju jače antioksidativno djelovanje. Ovisno o sorti grožđa i načinu prerade, sadržaj polifenola je različit, a najčešće su to spojevi iz grupe tanina i tvari boje. Danas se pažnja posvećuje njihovoj nutritivnoj i zdravstvenoj vrijednosti, antioksidacijskom, antibakterijskom, antikancerogenom djelovanju i dr.

Cilj ovog istraživanja je bio utvrditi sadržaj aromatičnih spojeva, polifenola, flavonoida te antioksidacijsku aktivnost u bijelim vinima đakovačkog vinogorja Mandićevac (uzorci: Chardonnay, Graševina i Traminac berbe 2011, 2012. i 2013.). Rezultati su pokazali da sorta, geografski položaj te količina oborina i broj sunčanih dana u godini utječu na sadržaj navedenih spojeva. Sva tri vina su imala najveći sadržaj polifenolnih tvari i tvari arome u godini berbe 2011. koja je imala najmanju količinu oborina i najveći broj sunčanih sati i dana.

Ključne riječi: vino, tvari arome, flavonoidi, polifenoli, antioksidacijska aktivnost

Rad sadrži:	68	stranica
	20	slika
	5	tablica
	35	literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1.	prof. dr. sc. Mirela Kopjar	predsjednik
2.	izv. prof. dr. sc. Anita Pichler	član-mentor
3.	prof. dr. sc. Nela Nedić Tiban	član- komentor
4.	izv. prof. dr. sc. Natalija Velić	zamjena člana

Datum obrane: 13. srpnja 2017.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food Technologies
Subdepartment of Food Engineering
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Wine technology

Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek at its extraordinary session no. III. held on July 3, 2017

Mentor: Anita Pichler, PhD associate prof.

Influence of rainfall and number of sunny days in three consecutive years of harvesting on the content of color and aroma components in white wines from vineyard Mandićevac

Mia Matošević, 361-DI

Summary: The aroma of wine represents a chemical complex that contains over one thousand volatile compounds, based on which the quality of wine can be determined, and plays a major role in selecting wines from consumers. Some of these compounds originate from grape varieties, while others are released during the fermentation process and during the aging and maturation of wine.

Previous research has determined the positive impact of moderate consumption of black wines on human health due to the increased content of polyphenols. However, recent studies have showed that polyphenols in white wines have higher antioxidant activity. Depending on the grape varieties and the method of processing, the polyphenol content is different, and most commonly these are tannin compounds and aroma components. Today, the most attention is observed to their nutritional and health value, antioxidative, antibacterial, anticarcinogenic impact and other.

The aim of this study was to determine the content of aroma components, polyphenols, flavonoids and antioxidant activity in white wines of the Đakovo wine district Mandicevac (samples: Chardonnay, Graševina and Traminac, year of harvest 2011, 2012 and 2013). The results showed that the variety, the geographic position, the rainfall and number of sunny days per year had impact on content of the above mentioned compounds. All three wines had the highest content of total polyphenols and aroma components in 2011 vintage, which had the smallest rainfall and the highest number of sunny hours and days.

Key words: wine, aroma components, flavonoids, polyphenols, antioxidant activity

Thesis contains:	68	pages
	20	figures
	5	tables
	35	references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. Mirela Kopjar PhD, full prof.	chair person
2. Anita Pichler PhD, associate prof.	supervisor
3. Nela Nedić Tiban PhD full prof.	member
4. Natalija Velić PhD, associate prof.	stand-in

Defense date: July 13, 2017

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek

Zahvaljujem se prije svega svojim roditeljima na svim trenucima u kojima su bili moja velika podrška tijekom ovih 5 godina. Jednako tako se zahvaljujem Davidu, te svojoj sestri i braći za svu podršku tijekom studiranja.

Na kraju se neizmjereno zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr.sc. Aniti Pichler na trudu i vremenu koji je uložila stručnim savjetovanjem u pisanju ovog diplomskog rada.

Sadržaj

1. UVOD	7
2. TEORIJSKI DIO.....	9
2.1. GROŽĐE KAO SIROVINA ZA PROIZVODNJU VINA	10
2.2. VINOGRADARSKE REGIJE REPUBLIKE HRVATSKE	10
2.3. UTJECAJ KLIMATSKIH UVIJETA, POLOŽAJA, SVOJSTVA TLA NA UZGOJ VINOVE LOZE	12
Toplina.....	12
Vlaga.....	14
Svjetlost.....	14
Vjetrovi.....	14
Mikroklimatski faktori...	15
2.4. BIJELA VINA ISTOČNE KONTINENTALNE HRVASKE	16
2.5. PROIZVODNJA BIJELIH VINA	17
2.6. POSTUPCI STABILIZACIJE BIJELIH VINA	22
2.7. KEMIJSKI SASTAV VINA.....	25
Alkoholi.....	25
Ugljikohidrati	26
Aldehidi i ketoni	30
Esteri.....	31
Tvari arome	31
Enzimi.....	32
Fenolni spojevi	32
Mineralne tvari (pepeo)	34
Ekstrakt vina	35
Dušične tvari.....	35
Koloidi vina	36
Proteini.....	37
2.7. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM	37
Plinska kromatografija.....	37
Spektrofotometrija masa	40
SPME analiza	40
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	42
3.1. ZADATAK.....	43

3.2. MATERIJALI I METODE.....	43
Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize.....	46
4. REZULTATI.....	48
5. RASPRAVA.....	55
6. ZAKLJUČCI	60
7. LITERATURA	63

Popis oznaka, kratica i simbola

SPME	Solid Phase Microextraction (mikroekstrakcija na čvrstoj fazi)
GC	Plinska kromatografija
GC/MS	Plinska kromatografija sa maseno-selektivnim detektorom

1. UVOD

Vino se proizvodi od grožđa vinove loze koja pripada porodici *Ampelideae*, roda *Vitis*. Zbog svojih fizioloških, kemijskih, senzorskih i drugih svojstava koristi se za potrošnju u svježem neprerađenom stanju, ali i kao sirovina za proizvodnju vina, alkoholnih i bezalkoholnih pića te drugih proizvoda. Osnovni dijelovi grozda su peteljka i bobica. Bobica se sastoji od kože, mesa i sjemenke (Moreno, Peinado, 2012., Zoričić, 2009.).

Hrvatska se vinogradarski dijeli u tri regije: Istočnu kontinentalnu Hrvatsku, Zapadnu kontinentalnu Hrvatsku i Primorsku Hrvatsku. Svaka od njih odlikuje se zemljopisnim, orografskim, geološkim, agroekološkim, ampelografskim, gospodarskim i drugim posebnostima.

U Istočnoj kontinentalnoj Hrvatskoj najviše se proizvode bijela vina, a najznačajnija i najzastupljenija sorta je Graševina. Obzirom na sortna svojstva i karakteristike zemljopisnog područja, Graševina je ovdje pronašla svoje mjesto, gdje na nekim položajima daje najbolju kvalitetu. Od ostalih bijelih sorata mogu se istaknuti Rajnski rizling, Chardonnay i Pinot sivi. Kao glavna organoleptična svojstva bijelih vina ovog kraja ističu se: kristalno bistra vina, žuto zelene do zlatno žute boje, srednje su do jako alkoholna, uravnoteženih, umjerenih kiselina, ekstraktna, te diskretnih do izraženih aroma (voćnih, cvjetnih, začinskih).

Cilj ovog istraživanja je bio utvrditi sadržaj aromatičnih spojeva, polifenola, flavonoida te antioksidacijsku aktivnost u bijelim vinima đakovačkog vinogorja Mandićevac (uzorci: Chardonnay, Graševina i Traminac berbe 2011, 2012. i 2013.). Rezultati su pokazali da sorta, geografski položaj te količina oborina i broj sunčanih dana u godini utječu na sadržaj navedenih spojeva. Sva tri vina su imala najveći sadržaj polifenolnih tvari i tvari arome u godini berbe 2011. koja je imala najmanju količinu oborina i najveći broj sunčanih sati i dana.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. GROŽĐE KAO SIROVINA ZA PROIZVODNJU VINA

Vino se proizvodi od grožđa vinove loze koja pripada porodici *Ampelideae*, roda *Vitis*. Zbog svojih fizioloških, kemijskih, senzorskih i drugih svojstava koristi se za potrošnju u svježem neprerađenom stanju, ali i kao sirovina za proizvodnju vina, alkoholnih i bezalkoholnih pića te drugih proizvoda. Osnovni dijelovi grozda su peteljka i bobica. Bobica se sastoji od kože, mesa i sjemenke (Moreno, Peinado, 2012.).

2.2. VINOGRADARSKE REGIJE REPUBLIKE HRVATSKE

Hrvatska se vinogradarski dijeli u tri regije: Istočnu kontinentalnu Hrvatsku, Zapadnu kontinentalnu Hrvatsku i Primorsku Hrvatsku. Svaka od njih odlikuje se zemljopisnim, orografskim, geološkim, agroekološkim, ampelografskim, gospodarskim i drugim posebnostima. Od krajnjeg sjeverozapada Hrvatske koji je pod utjecajem srednjoeuropske, te istočnih predjela uz Dunav i obronke Fruške gore s izrazitim utjecajem panonske klime, pa do Istre na sjeveru i dubrovačke općine do ulaska u Bokotorski zaljev na jugu jadranskog priobalja, s izrazitim utjecajem mediteranske klime, nalazi se velik broj vinogradarskih područja koja se međusobno znatno razlikuju. Te razlike što ih dijelimo u pet vinogradarskih klimatskih zona i koje se iskazuje podacima o srednjoj godišnjoj temperaturi i zbroju (sumi) topline, oscilaciji temperatura i pojavi kasnih proljetnih i ranih jesenskih mrazeva, količini i rasporedu oborina, vlažnosti zraka i drugim pojavama poput magle, tuče, rose i snijega, učestalosti vjetrova i njihova intenziteta, broja vedrih dana itd., uz one o sastavu tla, reljefu, ekspoziciji i inklinaciji i naročito sortimentu vinove loze utječu na smjer vinogradarske proizvodnje i kakvoću konačnog proizvoda, čijim se izborom i bogatstvom hrvatsko vinogradarstvo razlikuje od svih ostalih. Prava je rijetkost na tako malom prostoru susresti toliku raznovrsnost sorata kategorija i tipova vina, a upravo to Republiku Hrvatsku i u svjetskim mjerilima svrstava u iznimno zanimljivo vinogradarsko i vinarsko područje.

Vinogradarska regija Istočna kontinentalna Hrvatska

Prema Pravilniku o zemljopisnim područjima uzgoja vinove loze (N.N. 74/2012) propisuju se zemljopisna područja uzgoja vinove loze Republike Hrvatske koja se dijele na zone, regije, podregije, vinogorja i vinogradarske položaje.

Vinogradarska regija Istočna kontinentalna Hrvatska dijeli se na podregije:

- Hrvatsko Podunavlje,
- Slavonija.

U geografskom smislu taj prostor se nalazi između rijeke Drave na sjeveru (granica s Mađarskom), Save na jugu (granica s Bosnom i Hercegovinom), Dunava na istoku (granica sa Srbijom) i rijeke Ilove na zapadu.

Podregija Hrvatsko Podunavlje dijeli se na:

- Vinogorje Srijem (Ilok, Vukovar, Lovas, Tovarnik, Tompojevci, Bogdanovci, Nuštar, Nijemci, Stari Jankovci, Vinkovci, Ivankovo, Vođinci, Stari Mikanovci),
- Vinogorje Erdut (Erdut), – Vinogorje Baranja (Beli Manastir, Kneževi Vinogradi, Popovac, Draž).

Podregija Slavonija dijeli se na:

- Vinogorje Đakovo (Đakovo, Trnava, Drenje, Levanjska Varoš, Satnica Đakovačka, Gorjani),
- Vinogorje Slavonski Brod (Garčin, Podcrkavlje, Slavonski Brod, Sibinj, Brodski Stupnik, Oriovac),
- Vinogorje Nova Gradiška (Nova Gradiška, Kapela, Staro Petrovo Selo, Rešetari, Cernik, Gornji Bogičevci, Okučani) ,
- Vinogorje Požega – Pleternica (Požega, Pleternica, Brestovac, Jakšić),
- Vinogorje Kutjevo (Čaglin, Kutjevo, Kaptol, Velika),
- Vinogorje Daruvar (Daruvar, Dežanovac, Konačnica, Sirač, Đulovac),
- Vinogorje Pakrac (Pakrac, Lipik),
- Vinogorje Feričanci (Našice, Feričanci, Podgarač),
- Vinogorje Orahovica – Slatina (Orahovica, Slatina, Čačinci, Mikleuš, Nova Bukovica, Voćin),
- Vinogorje Virovitica (Virovitica, Suhopolje, Pitomača, Špišić Bukovica).

Bijele sorte vinove loze Istočne kontinentalne Hrvatske:

Chardonnay, Graševina, Kerner bijeli, Manzoni bijeli, Moslavac, Muškat bijeli, Muškat ottonel, Muškat žuti, Neuburger, Pinot bijeli, Pinot sivi, Radgonska ranina, Rajnski rizling, Ranfol, Rizvanac, Ružica crvena, Sauvignon, Semillon, Silvanac zeleni, Traminac bijeli, Traminac crveni, Verduzzo, Viognier bijeli, Zelenac slatki.

Zahvaljujući utjecaju umjerene kontinentalne klime i položajima vinograda koji se nalaze na prapornim zaravnima nadmorske visine od 100 do 200 m i blago nagnutim ocjeditim terasama u istočnom dijelu ovog područja te jugozapadu okrenuti osunčani položaji na zapadnom dijelu, stvorena je velika pogodnost za uzgoj vinove loze, a posebice graševine, koja daje puna i vrlo potentna vina, umjerene kiselosti te izražene voćne arome. Isto tako, većina preporučenih sorata za ovu ZOI daje prepoznatljiva vina visoke kakvoće.

2.3. UTJECAJ KLIMATSKIH UVIJETA, POLOŽAJA, SVOJSTVA TLA NA UZGOJ VINOVE LOZE

Najvažniji klimatski faktori su:

Toplina

Na toplinu utječu:

1. Geografska širina
2. Nadmorska visina
3. Blizina velikih masiva vode
4. Blizina većih kompleksa šuma
5. Blizina velikih kamenih goleti
6. Smjer pružanja planinskih lanaca
7. Ekspozicija i inklinacija terena

Za uzgoj vinove loze najvažnije je toplinsko obilježje nekog područja. Srednja godišnja temperatura najvažniji je pokazatelj toplinskog obilježja i treba biti od 9 do 21°C. U pojedinim fazama biološkog ciklusa važne su minimalne i maksimalne temperature. Biološka aktivnost počinje kada je srednja dnevna temperatura 10°C pa se ta temperatura naziva

biološkom nulom. Aktivne temperature su sve srednje dnevne temperature više od 10°C. Efektivne temperature se dobiju kada se od aktivne temperature odbije 10°C (biološka nula). Za punu zrelost grožđa i završetak ciklusa vegetacije potrebna je određena suma efektivnih temperatura u vegetacijskom periodu. Prema sumama efektivnih temperatura cijeli svijet se dijeli na pet klimatskih zona (Maletić i sur., 2008.).

Raspon suma efektivnih temperatura za vinogradarske zone u RH

- Zona B: 1250 - 1450°C,
- Zona C1 : 1450 - 1650°C,
- Zona C2 : 1650 - 2000°C,
- Zona C3 : > 2000°C.

Ekstremne temperature

- Niske temperature, osjetljivost loze– smrzavanje

Pupa u fazi otvaranja –4 do –5°C mladi listići na –2°C cvijet na 0°C. Vinova loza se štiti od smrzavanja nakupljanjem škroba i šećera u rozgvi tijekom dozrijevanja rozgve poslije berbe do opadanja lišća i razgradnjom škroba u šećer tijekom zimskog mirovanja (kaljenje loze). Sorte se razlikuju po duljini vegetacije i otpornosti na niske temperature.

- Ekstremno visoke temperature

U kombinaciji sa niskom vlagom zraka i izravnim sunčanim osvjetljenjem izazivaju opekline na bobicama i fiziološke promjene, pojava netipičnih i neugodnih aroma vina.

- Visoke srednje dnevne temperature u vrijeme dozrijevanja grožđa

Visoki sadržaj šećera, niski sadržaj kiselina (vina su neharmonična i tupa), manje aromatičnih tvari zbog manje sinteze i gubitka.

- Niske srednje dnevne temperature u vrijeme dozrijevanja grožđa

Manje šećera, više kiselina, intenzivnije arome.

Vlaga

Godišnja količina oborina, minimalna 300-400 mm, optimalna 600-800 mm uz dobar raspored tijekom vegetacije potpuno zadovoljene. Dovoljna količina vode naročito je važna u fazi intenzivnog rasta mladica i bobica. Previše oborina je štetno u fazi cvatnje i u fazi dozrijevanja. Veća vlažnost u tlu i u zraku, loza bolje podnosi visoke temperature. Visoka vlaga zraka povoljno utječe na razvoj gljivičnih bolesti, povoljna vlažnost je 70-80 % (Maletić i sur., 2008.).

Svjetlost

Važna za fotosintezu i u svim fazama razvoja, naročito u fazi formiranja rodničkih zimskih pupova i u fazi dozrijevanja. Za fotosintezu su važni crveni i plavi dijelovi spektra (valne duljine) sunčeve svjetlosti (Maletić i sur., 2008.).

Na količinu svjetla utječu:

- Geografska širina,
- Nadmorska visina,
- Reljef,
- Blizina velikih vodenih površina.

Vjetrovi

Povoljni vjetrovi

- Lagani umjereni vjetrovi

Nepovoljni vjetrovi

Topli su, donose vlagu i kišu, pospješuju bolesti, južni vjetrovi uz more donose sol i izazivaju ožegotine na listovima i bobicama:

- Jaki vjetrovi u vrijeme vegetacije,
- Sjeverni vjetrovi (hladni, suhi),
- Južni i zapadni vjetrovi.

Zaštita od vjetrova

- Smjer redova,
- Izbor uzgojnog oblika,
- Visina stabla čokota,
- Vjetрозаštitni nasadi.

Mirkoklimatski faktori

Ekspozicija terena

- položaj sjever, jug, istok, zapad,
- u toplim krajevima pogodni svi položaji,
- u hladnim krajevima nepovoljni položaji su: sjeverni i sjeveroistočni,
- u hladnim krajevima pogodni položaji su: južni i jugozapadni,

Inklinacija terena

- nagib terena,
- nagib terena prema suncu pogodan,
- položaji na brdovitom terenu:
 - podnožje brijega (duboko plodno tlo, veća vlaga, niža temperatura),
 - sredina brijega (ocjedito tlo, manje vlage, temperatura i vlaga povoljni),
 - vrh brijega (ocjedito tlo, manje vlage, viša temperatura).

Položaj

Glavni kompleksni faktor na koga utječu:

- nadmorska visina,
- ekspozicija terena,
- inklinacija terena,

- blizina velikih površina voda i šuma,
- mikroreljef (Maletić i sur., 2008.) .

O položaju ovisi urod i kvaliteta grožđa i vina. Naziv vina može sadržavati osim geografskog podrijetla i naziv položaja (npr. Dingač, Postup, Ivan Dolac, Klikan itd.).

2.4. BIJELA VINA ISTOČNE KONTINENTALNE HRVATSKE

Ovisno o položaju, mikroklimatskim uvjetima, sorti, načinu prerade grožđa, vinifikacije i dozrijevanja, bijela vina redovite berbe regije Istočna kontinentalna Hrvatska na tržište dolaze kao kristalno bistra, žuto zelene do zlatno žute boje, srednje su do jako alkoholna, uravnoteženih, umjerenih kiselina, ekstraktna, te diskretnih do izraženih aroma (voćnih, cvijetnih, začinskih).

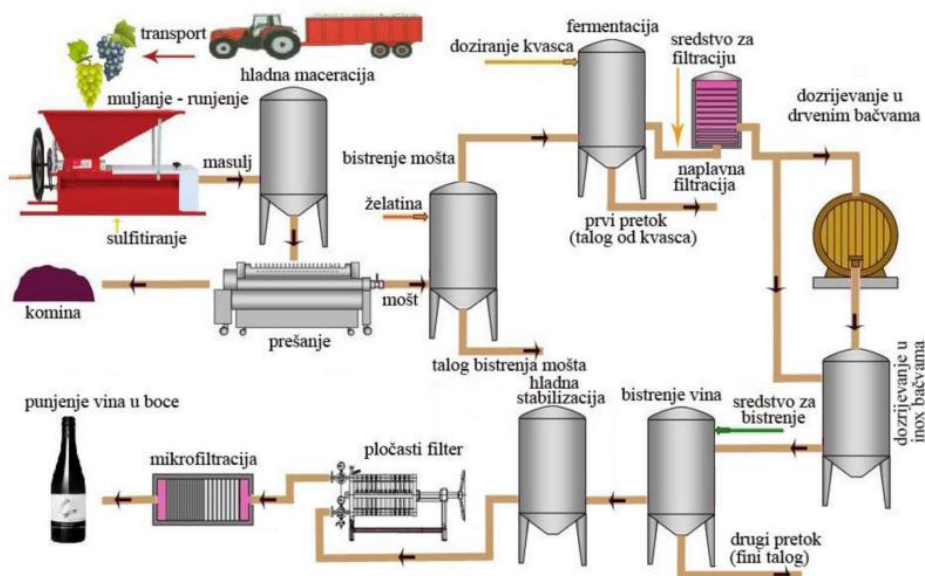


Slika 1 Bijelo vino (Web 1)

U Istočnoj kontinentalnoj Hrvatskoj najviše se proizvode bijela vina, a najznačajnija i najzastupljenija sorta je Graševina. Obzirom na sortna svojstva i karakteristike zemljopisnog područja, Graševina je ovdje pronašla svoje mjesto, gdje na nekim položajima daje najbolju kvalitetu. Od ostalih bijelih sorata mogu se istaknuti Rajnski rizling, Chardonnay i Pinot sivi. Kao glavna organoleptička svojstva bijelih vina ovog kraja ističu se: kristalno bistra vina, žuto zelene do zlatno žute boje, srednje su do jako alkoholna, uravnoteženih, umjerenih kiselina, ekstraktna, te diskretnih do izraženih aroma (voćnih, cvjetnih, začinskih). Vina predikatnih berbi po svim temeljnim senzornim svojstvima puno su kompleksnija, intenzivnije zlatno žute boje, te specifične arome koja se veže s plemenitom plijesni, osim kod kasne berbe. Vina su

gusta, viskozna i izuzetno bogatog sastava. Pjenušava vina odlikuju se izraženom tipičnom svježinom i privlačnim perlanjem. Budući da se uglavnom proizvode od mješavina sorata, kompleksnog su i privlačnog mirisa i okusa.

2.5. PROIZVODNJA BIJELIH VINA



Slika 2 Vinifikacija bijelih vina (Web 2)

Tehnološki proces proizvodnje bijelih vina sastoji se od tri osnovne faze: berba i prerada grožđa, alkoholno vrenje mošta i formiranje prave kakvoće vina. Berba i prerada grožđa početne su faze proizvodnje vina koje obuhvaćaju više operacija. Uglavnom se radi o mehaničkim operacijama berbe, transporta, muljanja, cijedenja, prešanja, taloženja mošta, popravljivanja kemijskog sastava mošta (zaslađivanje i popravljivanje kiselosti) i sumporenja (Vrdoljak, 2009.).

Pravilno određeno vrijeme berbe jedan je od uvjeta za proizvodnju dobrog vina. To vrijeme je kada grožđe dosegne najpovoljnije karakteristike za proizvodnju kvalitetnog vina – faza tehnološke zrelosti. U tu svrhu podrumar mora pratiti sazrijevanje grožđa tijekom 15 dana prije berbe.

Berba grožđa može se obavljati ručno i strojno. Važni su i uvjeti berbe te manipulacija tijekom berbe, transporta i prijema grožđa. Vrlo je važno što manje oštetiti pokožicu bobica

kojima je sok u mesu bobice prirodno zaštićen od infekcije nepoželjnim mikroorganizmima i preranog početka alkoholne fermentacije (Muštović, 1985.).

Grožđe se u vinariju dovozi u sanducima (20 – 30 kg) ili rinfuzno traktorskim i kamionskim prikolicama.

Prijem grožđa u vinariji se sastoji od vaganja, vizualnog pregleda (stanje zrelosti, zdravlje, pljesnivost, oštećenje od tuče) i određivanja šećera i ukupnih kiselina [Vrdoljak, 2009.].

Grožđe se prihvaća u prihvatne bunkere ili direktno u prihvatni koš muljače ukoliko se radi o manjoj vinariji (Muštović, 1985.).

Runjenje i muljanje

Runjenje je operacija odvajanja bobica od peteljki u uređaju sa perforiranim cilindrom i lopaticama, koji može biti prije i poslije muljače. U muljači se odvija muljanje grožđa, odnosno gnječenje bobica i oslobađanje soka (mošta) iz mesa bobica. Danas na modernim strojevima, runjača – muljača, odvaja se runjanjem u bubnju s rupicama bobica od peteljkovine, a zatim se na valjcima mulja (gnječi) bobica, tako se dobiva smjesa soka i krutih dijelova bobice (sjemenka i kožica) zvana masulj. Odvajanjem peteljkovine vino se oslobađa gorčine i trpkosti, te dolaze do većeg izražaja mirisne komponente sorte (Muštović, 1985.).



Slika 3 Runjenje grožđa (Web 3)



Slika 4 Električna muljača (Web 4)

Cijeđenje i prešanje

Nakon muljanja slijedi cijeđenje mošta. Spontano ocjeđivanje mošta daje vino najbolje kakvoće. Takav mošt naziva se samotok. Nakon samoocijeđivanja mošta, zaostali masulj se preša. Prije prešanja masulj se može depektinizirati u cilju razgradnje protopektina i pektina radi olakšavanja prešanja i većeg iskorištenja mošta. Prešanje se najčešće provodi kontinuiranim pužnim prešama, pod tlakom čime se dobiva mošt I., II. i III. prešavine. Primjenom manjih tlakova dobivaju se prešavine bolje kakvoće i s manje taloga (Muštović, 1985.).



Slika 5 Preša za grožđe (Web 5)

Sumporenje mošta i vina

Učinak sumpora je višestruk; štiti mošt i vino od oksidacije, jer ne dopušta prijenos kisika na pojedine sastojke mošta i vina pomoću enzima, ali i utječe na selekciju mikroorganizama i koagulaciju bjelančevina pri taloženju mošta. Ako nije provedeno sumporenje kod muljanja grožđa, mošt se sumpori nakon prešanja sa kalijevim metabisulfitom (vinobran). O količini dodanog sumpora ovisi zdravstveno stanje grožđa. Bolesno grožđe potrebno je jače sumporiti kao i mošt s više sladora, jer slador veže dio sumpora, te na taj način smanjuje udio aktivnog sumpora. Pravilnim sumporenjem mošta potrebe za sumporenjem vina bit će manje. Dodatak prevelike količine sumpora ima loše djelovanje na zdravlje ljudi te negativno djeluje na organoleptička svojstva vina (Muštović, 1985.).

Depektinizacija mošta

Depektinizacija mošta se provodi radi smanjenja viskoznosti mošta i ubrzanja bistrenja mošta na četiri do šest sati. U cilju depektinizacije dodaju se slijedeći preparati: enzimi za depektinizaciju, depolimerizaciju i deesterifikaciju. Depektinizacije se provodi u vertikalnim tankovima u kojima se provodi i bistrenje mošta. Vrijeme depektinizacije ovisi o temperaturi mošta koja se kreće između 10 °C i 25 °C, ponekad i više. Niža temperatura mošta zahtijeva dodatak veće količine enzima (Vrdoljak, 2009.).

Bistrenje mošta

Bistrenje mošta je taloženje nečistoća iz mošta koja su došla sa grožđem. Nečistoće bi kasnije negativno utjecale na bistrenje i kvalitetu vina. Ukoliko se provede bistrenje mošta, vrenje je sigurnije i mirnije te nije potrebno naknadno bistrenje vina. Bistrenjem vina vežu se aroma, tvari boje i druge tvari koje utječu na okus vina. Bistrenje se može provesti spontanim taloženjem mošta kroz 24 sata ili uz dodatak bistrila. Nakon bistrenja mošt se pretače u bačve ili cisterne, te mu se istodobno dodaje prethodno pripremljeni selekcionirani vinski kvasac (Vrdoljak, 2009.).

Glavno vrenje

Alkoholna fermentacija mošta predstavlja početak nastanka vina. Provodi se u drvenim, metalnim ili betonskim vrionicima, u dvije odvojene faze:

- Glavno (burno vrenje): toplo na 15 do 18 °C (maksimalno 20 °C) u trajanju pet do deset dana i hladno na 10 do 15 °C, od 7 do 14 dana.

- Naknadno (tiho) vrenje na minimalnoj temperaturi od 15 °C, tri do šest tjedana.

Mošt predstavlja hranjivu podlogu pogodnu za rast i razmnožavanje kvasaca jer sadrži tvari za njegovu ishranu (šećer, dušične tvari, mineralne tvari i vitamine) (Vrdoljak, 2009.).

Kvasci razlažu šećer na glavne produkte fermentacije: etanol i ugljični dioksid. Osim ovih primarnih produkata, nastaju i manje količine sekundarnih produkata: glicerol, jantarna kiselina, hlapive kiseline, acetaldehid, viši alkoholi, aminokiseline i metanol uz oslobađanje topline. Kvasac ima značajnu ulogu u nastajanju arome vina jer najveći dio arome vina nastaje upravo u procesu alkoholnog vrenja. Zbog toga izboru kvasaca i temperaturi vrenja treba posvetiti posebnu pažnju (Vrdoljak, 2009.).

Prilagođavanje određenih čimbenika tijekom fermentacije može se dobiti vino željene kakvoće i sastava: temperatura mošta, sastav mikroflore mošta, kemijski sastav mošta, sadržaj SO₂ i CO₂.

Suvremena tehnologija danas preporuča vrenje pri niskim temperaturama tzv. hladno vrenje na temperaturama od 8 do 17 °C uz upotrebu selekcioniranih kvasaca pogodnih za hladno vrenje. Na visokim temperaturama (25 °C i više) vrenje je burno, CO₂ naglo izlazi i odnosi iz mošta aromatične tvari i alkohol što nepovoljno djeluje na kvalitetu vina. Takva vina nemaju izražen sortni miris (Muštović, 1985.).

Kod nižih temperatura (13 – 17 °C ili niže) vrenje je jednakomjernije, iskorištenje šećera je bolje, dobivaju se skladnija vina sa više aromatičnih i buketnih tvari i manje hlapljivih kiselina. Kod nižih temperatura u vinu se otapa više CO₂ koji daje svježinu vina. Ova vina imaju izraženi sortni voćni miris, bolje zadržavaju svježinu i imaju bolji okus (Muštović, 1985.).

Alkoholna fermentacija je prirodno zaštićen proces jer vinski kvasci proizvode CO₂ čime stvaraju anaerobne uvjete, nepogodne za rast i razmnožavanje nepoželjnih mikroorganizama.

Prva faza fermentacije je aerobna tj. kvasci koriste kisik iz zraka i potpuno razlažu šećer do CO₂. Oslobođena energije koristi se za intenzivan rast i razmnožavanje selekcioniranog kvasca.

U drugoj fazi (anaerobnoj) oslobađa se znatno manja količina energije. Šećeri se razlažu do etanola i CO₂. Iako je fermentacija strogo anaeroban proces, povremenim provjetravanjem postiže se bolje iskorištenje šećera (Vrdoljak, 2009.).

Tiho vrenje

Nakon što je završilo glavno vrenje, vrionici se dopunjavaju da bi održali anaerobne uvjete. Dolazi do naglog hlađenja vina, oslobađanja nagomilanog CO₂, intenzivnog taloženja nepoželjnih produkata vrenja i prirodnog spontanog bistrenja (talože se stanice vinskog kvasca, soli teških metala, proteini i zaostale čestice grožđa, te se razgrađuju vinska i jabučna kiselina) (Vrdoljak, 2009.).

Dozrijevanje, hladna stabilizacija, filtracija, punjenje u boce

Zrenjem, tj. odležavanjem, mlado vino se diže sa taloga te se dobivaju aromatične tvari, boja i bistroća. Zrenje vina se provodi na temperaturi od 10 do 12 °C uz pretakanja u pravilnim vremenskim razmacima, u svrhu odvajanja vina od stanica kvasaca i taloga. Tijek zrenja ovisi o uvođenju kisika, a uvelike pridonosi kakvoći i stabilnosti vina. Vina se danas najčešće čuvaju u bocama. Vina u bocama su dobro zaštićena jer je minimalan pristup kisika i tako je lakše očuvana kakvoća vina (Muštović, 1985.).

2.6. POSTUPCI STABILIZACIJE BIJELIH VINA

Bistrenje

Za vina koja se pune u boce vrlo je važno da budu bistra i stabilna, da ne dođe do naknadnog stvaranja taloga i замуćenja u boci. Bistrenjem se odstranjuju nestabilni spojevi, te se postižu odgovarajuća organoleptička svojstva.

Postupci bistrenja su: spontano, prirodno bistrenje (dugotrajan proces), fizikalno-kemijsko bistrenje sredstvima za bistrenje (bentonit, dijatomejska zemlja, želatina), fizikalno-kemijsko bistrenje različitim načinima fizičke obrade (hladna stabilizacija, termo postupak,

ionoizmjenjivači, katalizatori) i ubrzano bistenje mehaničkim odstranjivanjem čestica mutnoće (filtracija, mikrofiltracija, centrifugiranje) (Horvat, 2010.).

Sumporenje

Sumporenje mošta i vina je nužno ako se žele izbjeći nepoželjne promjene izgleda i okusa, odnosno ako se želi proizvesti zdravo i stabilno vino. Iz zraka, pribora, opreme i sa posuđa u vino mogu dospjeti nepoželjni mikroorganizmi koji će uzrokovati oboljenja i mane vina. Sumporenjem mošta i vina spriječavaju se oksidativne promjene boje (posmeđivanje) do kojeg dolazi vezivanjem kisika iz zraka sa sastojcima vina (boja, tanin, dušične tvari) usljed čega se ne mijenja samo boja, već negativno utječe na okus i miris vina.

Sumporni dioksid dodan vinu prelazi u sumporastu kiselinu koja je većim dijelom vezana. Slobodni dio djeluje kao antiseptik na štetne bakterije uzročnike bolesti vina, divlje kvasce, plijesni i gljivice. Sumporni dioksid sprječava oksidaciju odnosno posmeđivanje vina, na način da se veže sa sastojcima vina podložnim oksidaciji – polifenolima (Horvat, 2010.).

Hladna stabilizacija

Hladna stabilizacija vina se provodi hlađenjem vina na temperaturu blizu temperature smrzavanja i zadržavanjem na toj temperaturi 6-8 dana. Pri tome dolazi do ubrzane kristalizacije i taloženja tartarata, odnosno soli vinske kiseline, tzv. vinskog kamena. Taloženje tartarata je jedan od najvažnijih procesa za stabilnost vina, tartarati se talože i prirodnim putem odležavanjem i dozrijevanjem vina, ali na taj način to traje dugo.

Pored tartarata hladnom stabilizacijom iz vina se koaguliraju i talože i nestabilne obojene tvari, proteini, pektini. Zajedno sa koagulatima iz vina se velikim dijelom izdvajaju i talože na dno mikroorganizmi. Temperatura do koje se hladi vino treba biti blizu temperature smrzavanja. Kolika je to temperatura ovisi o sadržaju alkohola i ekstraktivnih tvari u vinu (Vrdoljak, 2009.).

Pretakanje vina

Nakon fermentacije te tijekom zrenja i čuvanja vina, izdvajaju se razne anorganske i organske tvari koje padaju na dno posude. Talog sadrži organske tvari koje potječu od grožđa, vinski kvasac, zemlju, proteine, nečistoće i nepoželjne mikroorganizme. Nakon vrenja kvasac

počinje izumirati i raspadati se. Produkti tog razlaganja nepovoljno utječu na bistrinu, miris i okus vina, te služe kao hrana nepoželjnim mikroorganizmima.

Pretakanje se može provoditi i u svrhu odstranjivanja stranih mirisa ili viška SO_2 iz vina i za ubrzanje oksidativnih procesa (Horvat, 2010.).

Filtracija

Filtracija je postupak mehaničkog odstranjivanja čestica mutnoće iz vina. U tu svrhu koriste se pločasti i ramski filteri različitog poroziteta te naplavni filteri.

Kod naplavnih filtera koriste se pomoćna filterska sredstva za naplavlivanje koja imaju adsorptivna svojstva kao i bistrila, tako da iz vina vežu čestice mutnoće i otopljene nestabilne spojeve. Služe za prvu, grubu filtraciju.

Pročišćavanje vina preko pločastih filtera odvija se kroz filter ploče. Djelovanje ploča je mehaničko i adsorpcijsko. Ova vrsta filtracije može poslužiti za grubu, srednju, finu i sterilnu filtraciju.

Novi postupak filtracije vina je membranska filtracija, odnosno primjena membranskih filtera. Ovim postupkom se uklanjaju makromolekule, proteini, pektini i tanini, te mikroorganizmi, tako da se dobije sterilno vino (Horvat, 2010.).



Slika 6 Membranski filter (Web 6)

2.7. KEMIJSKI SASTAV VINA

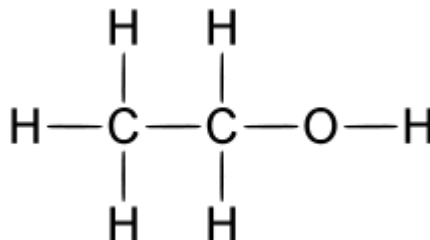
Kemijski sastav vina raznovrstan je s obzirom na velik broj kemijskih komponenti koje prema kemijskoj građi pripadaju različitim grupama spojeva.

Jabučna vina se s obzirom na kemijski sastav klasificiraju prema kiselosti, udjelu tanina, fenolnim tvarima te šećerima.

Zakon o vinu određuje granične vrijednosti pojedinih sastojaka i njihove odnose, a rezultati dobiveni kemijskim analizama moraju biti u skladu s istima. (Zoričić, 1996.).

Alkoholi

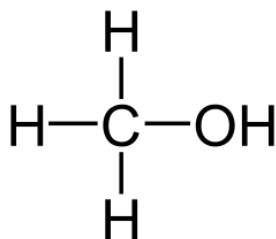
Vino sadrži velik broj različitih alkohola. Etilni alkohol (etanol) nastaje alkoholnom fermentacijom prirodnih šećera, a koliko će nastati etilnog alkohola ovisi o udjelu šećera u grožđu i moštu. U iznimnim slučajevima, prilikom popravljivanja mošta, može se dodavati i saharoza. Dopušteni udio alkohola u vinu, kod stolnih vina, se kreće od 8.5% vol. do 15% vol. kod kvalitetnih i vrhunskih vina (Vrdoljak, 2009).



Slika 7 Strukturna formula alkohola etanola (Web 7)

Ostali alkoholi koji se nalaze u vinu su metilni alkohol (metanol) i viši alkoholi.

Metanol nije produkt fermentacije. U vinu se javlja kao nusprodukt, a nastaje hidrolizom pektinskih tvari. Od sorata grožđa bogate pektinom u konačnici i njihova vina imaju više udjele metanola. Iako se metanol u vinu nalazi u malim količinama, crna vina sadrže 2 – 3 puta više metanola od bijelih vina. Alkohol metanol je toksičan i oksidacijom može preći u formaldehid i mravlju kiselinu koji su toksični za centralni živčani sustav. Vino proizvedeno od plemenitih sorti grožđa nikad nema metanola preko kritičnog sadržaja od 350 mg/kg. Međutim, u vinima proizvedenim od hibridnih sorti grožđa sadrže visoki udio metanola pa su toksična. Stoga nije dopušteno proizvoditi vino od hibridnih sorti grožđa (Horvat, 2010.).



Slika 8 Strukturna formula alkohola metanola (Web 8)

Pod nazivom viši alkoholi podrazumjevamo alkohole s dva i više C atoma. Većina viših alkohola nastaje kao sekundarni produkt fermentacije, koje sintetiziraju kvasci iz šećera ili aminokiselina koje se nalaze u grožđu i moštu. Viši alkoholi javljaju se u vinima u minimalnim količinama (150 – 550 mg/L), te s kiselinama daju estere koji poboljšavaju kakvoću vina. Koncentracija viših alkohola ovisi o sorti grožđa, vrsti kvasca te uvjetima prerade. Najznačajniji viši alkoholi su izobutanol, amilalkohol, izoamilalkohol (Vrdoljak, 2009.).

Od viševalentnih alkohola u vinu, posebno se može izvojiti glicerol. Glicerol je poliol i u svojoj kemijskoj strukturi sadrži 3 C atoma i 3 hidroksilne skupine. Proizvode ga kvasci alkoholnom fermentacijom. Glicerol u vinu utječe na okus vina te mu daje osjećaj punoće i blagosti, te pojačava slatkoću vina (Horvat, 2010.).

Najzastupljeniji od aromatskih alkohola prisutnih u vinu, najznačajniji je fenil-etanol, koji ujedno utječe na bouquet vina (Vrdoljak, 2009.).

Ugljikohidrati

Najraširenija skupina organskih spojeva u živom svijetu su ugljikohidrati. Sinteza ugljikohidrata započinje u zelenim djelovima biljaka, najviše listu i zelenim bobicama, složenim procesom naziva fotosinteza. Ugljikohidrati u hrani mogu biti prirodno prisutni ili se u hranu dodaju.

Ugljikohidrati su sačinjeni od ugljika, kisika i vodika, a njihova opća formula je $C_n(H_2O)_m$

Udio šećera u grožđu i moštu ovisi o sorti, okolinskim i vremenskim uvjetima. Visokokvalitetne sorte mogu imati od 22 do 28% šećera, dok se kod kvalitetnih sorti količina šećera kreće od 18 do 22%. Kvasci brže i lakše previru glukozu nego fruktozu do etanola, CO_2

i drugih spojeva (Vrdoljak, 2009.). Razni su oblici u kojima se prirodni ugljikohidrati postoje, a većina njih u obliku je oligosaharida ili polisaharida (polimera).

Kemijski sastav svih ugljikohidrata je isti, međutim možemo napraviti podjelu istih prema složenosti u građi molekule. Dijelimo ih na (Stričević i Sever, 2001.):

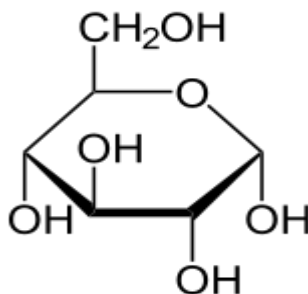
- monosaharide (glukoza, fruktoza)
- disaharide (saharoza, maltoza, laktoza)
- polisaharide (škrob, amiloza, amilopektin, celuloza).

U grožđu, moštu i vinu, od monosaharida najzastupljenije su heksoze, D-glukoza i D-fruktoza, te manjim dijelom pentoze, L-arabinoza i D-ksiloza. Zrenjem voća dolazi do rasta udjela fruktoze u odnosu na glukozu. U zelenoj bobici ima svega $\frac{1}{2}$ fruktoze i $\frac{3}{4}$ glukoze. Zrenjem se ova razlika smanjuje tako da je pri tehnološkoj zrelosti odnos fruktoze i glukoze 1 : 1. S obzirom na koncentraciju šećera u plodu jabuke, predstavljaju glavnu komponentu u formiranju organoleptičkih svojstava sirovine.

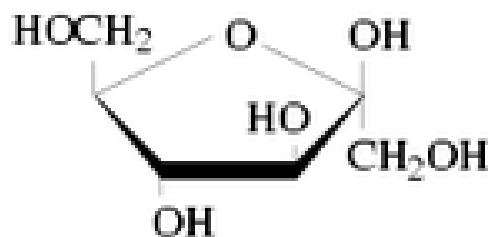
Od oligosaharida u grožđu prisutni su saharoza, maltoza, laktoza, rafinoza i trehaloza, ali je samo saharoza bitan sastojak, dok ostali nemaju utjecaj na kakvoću vina.

Od visokomolekularnih polisaharida u grožđu su prisutni pektini, škrob, glikogen, smole i sluzave tvari. Većina ovih tvari otežava taloženje i bistrenje vina.

Određivanje šećera u grožđu i moštu provodi se moštnim vagama (Oechslova i Baboova ili Klosterneuburška), te refraktometrom (Horvat, 2010.).



Slika 9 Strukturna formula šećera glukoze (Web 9)



Slika 10 Strukturna formula šećera fruktoze (Web 10)

Kiseline

U vinu su prisutne kao normalni sastojci vina, te se upravo zbog njihove prisutnosti vino odlikuje kiselim okusom, što utječe na konačnu kakvoću vina.

Kiseline u vinu mogu biti:

- ukupne kiseline tj. sadržaj svih kiselina u vinu, a iskazuju se kao vinska kiselina,
- hlapljive i nehlapljive kiseline.

Udio kiseline u grožđu i moštu kreće se od 5 do 15 g/L, od toga najveći udio čine vinske i jabučne kiseline. Procesom zrenja udio jabučne kiseline se smanjuje. Premalo kiseline u vinu daje tupi okus vinu (Horvat, 2010.).

Kiseline u vinu su organske (hlapljive i nehlapljive), anorganske kiseline i soli različitih kiselina.

Organske kiseline u vinu mogu biti podrijetlom iz (Horvat, 2010.):

- grožđa odnosno mošta (vinska, jabučna, limunska, askorbinska, oksalna, glikolna, glukonska),
- kao produkti alkoholne fermentacije (piruvična, mliječna, octena, sukcinna, oksalna i fumarna kiselina),
- mliječna kiselina nastala malolaktičkom fermentacijom iz jabučne kiseline,
- kiseline nastale razvojem sive plijesni na grožđu.

Organske kiseline koje se nalaze u vinu su vrlo važne za organoleptička svojstva vina, posebno kod bijelih vina i za fizikalno-kemijsku i mikrobiološku ispravnost vina (Horvat, 2010.).

Metabolizam kvasaca i octeno kiselim vrenjem nastaju hlapljive kiseline. Ovisno o soju kvasca ovisi i količina kiselina koja će nastati. Selekcionirani kvasci produciraju manje hlapljivih kiselina. Temperatura fermentacije isto tako ima značajan utjecaj na tvorbu hlapljivih kiselina, pa tako pri nižim temperaturama fermentacije nastaje manje hlapljivih kiselina.

Octena kiselina je najzastupljenija od hlapljivih kiselina u vinu. Octena kiselina nastaje oksidacijom alkohola, djelovanjem octenih bakterija u aerobnim uvjetima, te djelovanjem kvasaca u anaerobnim uvjetima tijekom alkoholne fermentacije. Pojava octene kiseline karakteristična je za bolesna vina. Međutim, ukoliko se octena kiselina nalazi u manjim koncentracijama, do 0.3 g/L, ona nema štetno djelovanje već pozitivno utječe na okus vina. Vino može sadržavati i sljedeće kiseline: mravlju, propionsku, butirnu, kaprionsku, kaprilnu, kaprinsku i laurinsku kiselinu.

Od nehlapljivih kiselina u vinu treba izdvojiti: vinsku, jabučnu, mliječnu, jantarnu i limunsku kiselinu.

U zelenim dijelovima vinove loze nalazi se vinska kiselina. Vinska kiselina je najjača i ključna kiselina, stoga najviše utječe na pH-vrijednost i kiselost vina. Vezivanjem vinske kiseline s mineralima kalija i kalcija dolazi do stvaranja soli – tartarata koji nisu dobro topljivi. Pri nižim temperaturama tartarati se mogu istaložiti u obliku sitnih kristala.

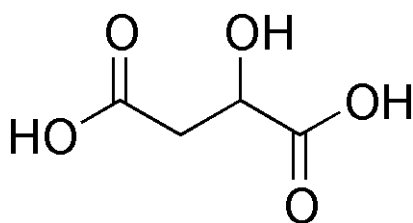
Dozrijevanjem grožđa koncentracija jabučne kiseline opada. Pad koncentracije jabučne kiseline povezan je sa temperaturom zraka. Iz tog razloga, jabučna kiselina zastupljenija je u vinima sjevernih krajeva i u godinama s nižim temperaturama. Veće koncentracije ove kiseline pridonosi zeljastom, neharmoničnom okusu vina. Mliječno – kiselim vrenjem (malolaktičkim vrenjem) jabučna kiselina pretvara se u slabiju (manje kiselu) mliječnu kiselinu.

Mliječna kiselina se u vinu javlja kao sekundarni produkt alkoholne fermentacije. Mliječna kiselina, u većim količinama, javlja se uslijed metabolizma mliječno-kiselih bakterija, u pokvarenim vinima.

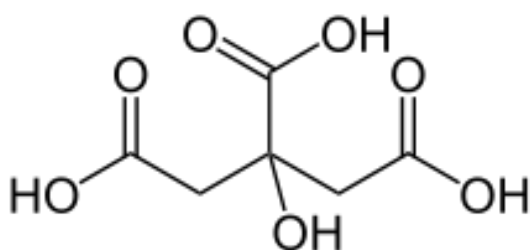
Jantarna kiselina sekundarni je produkt alkoholne fermentacije iz acetaldehida. Prisutna je u neznatnim količinama, a vinu daje gorčinu.

Ukoliko dođe do previranja šećera djelovanjem plijesni u vinu nastaje limunska kiselina.

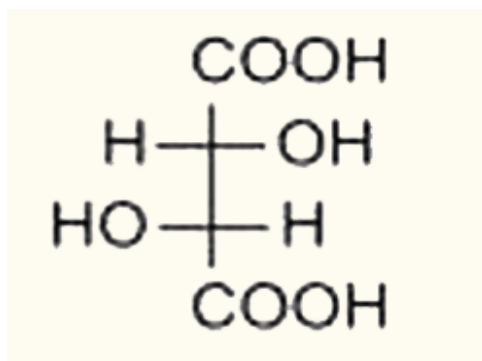
Anorganske kiseline prisutne u vinu najčešće se javljaju u obliku kalijevih i kalcijevih soli.



Slika 11 Strukturna formula jagučne kiseline (Web 11)



Slika 12 Strukturna formula limunske kiseline (Web 12)



Slika 13 Strukturna formula vinske kiseline (Web 13)

Aldehidi i ketoni

Aldehidi i ketoni reaktivni su spojevi. Vežu se sa sumporastom kiselinom i njenim solim tvoreći lako topljive kiseline. Ovi spojevi veoma su značajni jer tvore karakterističnu aromu i bouquet vina, a time i organoleptička svojstva vina.

Aldehidi u čistom obliku daju oštar miris, koji podsjeća na voće. Najintenzivniji miris daje heptanal. Alkoholnim vrenjem nastaju novi aldehidi, uglavnom acetaldehid na koji otpada 90%. Alifatskih aldehida u vinu ima vrlo malo, te daju ugodan voćni miris (Vrdoljak, 2009.).

Ketoni su u moštu i vinu slabo zastupljeni. Najzastupljeniji je aceton, potom acetoin i diacetil. Većina ima miris svježeg maslaca, što u većim količinama može dati nijansu užeglosti (Vrdoljak, 2009.).

Esteri

Esterifikacijom alkohola i kiselina koji nastaju esteri. Tijekom fermentacije (hlapljivi esteri) i odležavanja i starenja vina (nehlapljivi esteri) dolazi do povećanja njihovog udjela, što znači da ih u vinu ima više nego u polaznoj sirovini, grožđu. Esteri octene kiseline daju ugodan miris i svježinu vinu. To su: etil acetat, propil acetat, izopropil acetat, izobutil acetat i izoamil acetat.

Od estera masnih kiselina u vinu su zastupljeni: etil propionat, etil valerijat, etil heksanoat, etil oktanoat i etil dekanat (Vrdoljak, 2009.).

Tvari arome

Aromu vina čine različiti hlapivi sastojci koji se u istima nalaze u malim koncentracijama reda veličine od nekoliko mg/L do nekoliko ng/L. Aroma vina je kompleksna i formira se tijekom zrenja, složenim kemijskim, biokemijskim i mikrobološkim procesima. (Vrdoljak, 2009.). Sadržaj tvari aroma isključivo ovisi o sorti vinove loze, zrelosti grožđa, načinu uzgoja, klimatskim uvjetima prilikom sazrijevanja ploda, sastavu tla, primjeni agrotehničkih mjera uzgoja sirovina, te o tehnologiji prerade grožđa u vinu.

Aroma vina naziva se bouquet. Tvari arome uglavnom se nalaze u pokožici, a znatno manje u mesu i sjemenkama grožđa. To su različite tvari arome koje pripadaju velikom broju različitih kemijskih spojeva: hlapive karboksilne kiseline, alkoholi, esteri, aldehidi, ketoni, eterična ulja, više masne kiseline, terpeni, te tvari slične smolama i voskovima.

Aroma vina potječe (Vrdoljak, 2009.):

- Iz grožđa ovisno o sorti grožđa, klimatskim uvjetima i agrotehničkim mjerama uzgoja,

- Biokemijskim reakcijama (oksidacija, hidroliza) tijekom separacije mošta i maceracijom,
- Alkoholnom fermentacijom, produkcijom kvasaca nastaje karakteristična aroma; malolaktičkom fermentacijom,
- Kemijskim i enzimatskim reakcijama poslije fermentacije tijekom dozrijevanja i starenja vina u bačvama, cisternama i bocama nakon punjenja.

Najvažniji hlapljivi spojevi primarne arome grožđa su monoterpeni: geraniol, linalol, nerol, α -terpineol, citronelol i hotrineol. Ovi spojevi su odgovorni za voćne i cvjetne mirise pojedinih sorti grožđa. Terpeni mogu biti slobodni u hlapljivom obliku ili vezani za šećere – glikozidi.

Sve tvari arome se određuju instrumentalnim metodama: tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), plinska kromatografija (GC), analitičkim metodama i senzorskim ocjenjivanjem (Vrdoljak, 2009.).

Enzimi

Enzimi u moštu i vinu, kao organski biokatalizatori, imaju ulogu kao pokretača kemijskih reakcija koje se odvijaju tijekom vinifikacije, taloženja i bistrenja vina, odležavanja, starenja i njege vina. Iz tog razloga značajni su za razvoj sekundarnog bouquet-a vina.

U vinu se nalazi veći broj enzima, a među njima najvažniju ulogu imaju sljedeći: saharaza (invertaza), tanaza, pektaza i katalaza. Saharaza hidrolizira saharozu na glukozu i fruktozu. Tanaza, koja u vino dopijeva iz plijesni trulog grožđa, katalizira tvorbu taninskih tvari. Pektaza je značajna za bistrenje vina, a hidrolizira pektinske tvari na metanol i poligalakturonsku kiselinu. Katalaza ubrzava oslobađanje kisika iz vodikovog peroksida i ostalih peroksidnih spojeva, te na taj način toksično djelovanje ovih spojeva ne dolazi do izražaja (Vrdoljak, 2009.).

Fenolni spojevi

Fenolni spojevi su sekundarni biljni metaboliti prisutni u svim biljnim tkivima voća i povrća, te fermentiranih proizvoda kao što su vina. Fenoli su grupa organskih spojeva koji u svom

kemijskom sastavu sadrže jednu ili više hidroksilnih grupa na aromatskom prstenu i/ili prstenima. Međusobno variraju u strukturi, od jednostavnim molekula, monomera i oligomera, do polimera. Prema osnovnoj kemijskoj strukturi može ih se podijeliti na fenolne kiseline i flavonoide. Najznačajniji fenolni spojevi u moštu i vinu su fenolne kiseline i njihovi derivati, flavonoidi, tanini i antocijani koje potječu iz čvrstih dijelova grožđa. Fenolni spojevi ekstrahiraju se alkoholnom fermentacijom iz masulja, te prelaze iz mošta u vino (Mihovilović, 2016.).

Od fenolnih kiselina u grožđu i vinu se nalaze benzojeva i cimetna kiselina te njihovi derivati. Fenolne kiseline su obojene u razrijeđenoj alkoholnoj otopini, a oksidacijom prelaze u žute pigmente. One ne utječu na okus i miris, ali su prekursori za hlapive fenolne spojeve.

Flavonoidi su žuti pigmenti koji se nalaze u kožici bijelog i crvenog grožđa. U grožđu se nalaze u obliku glikozida koji hidroliziraju tijekom fermentacije.

U dodiru sa kisikom fenolne tvari lako oksidiraju. Djelovanjem enzima polifenoloksidaza oksidacija je intenzivnija i dolazi do pojave posmeđivanja vina. Namirnice sa visokim udjelom fenolnih spojeva od velikog su značaja u industriji zbog svog utjecaja na oksidaciju lipida što rezultira konačnim proizvodom visoke nutritivne vrijednosti, a time i kvalitete (Kähkönen i sur., 1999).

Fenolni spojevi pridonose senzorskim svojstvima odnosno okusu, aromi i boji te nutritivnoj vrijednosti namirnicama biljnog podrijetla te mnogobrojnim proizvodima dobivenim preradom istih. (Cheynier, 2005).

Neke fenolne tvari koje se nalaze u hrani mogu pridonijeti suhom osjećaju u ustima tijekom konzumacije. Tanini su polifenolni spojevi složene strukture i važan su sastojak vina za vrijeme vinifikacije i odležavanja vina. U grožđu se nalaze kondenzirani tanini kao polimeri flavonoidnih fenola, odnosno proantocijanidini. Osim toga, sadržaj fenola koji daju trpkost namirnici ili proizvodu može imati i utjecaj na prihvaćanje ili neprihvaćanje istog. Uz to, značajno utječu na fizikalno-kemijska i senzorska svojstva vina. Ovi se spojevi uglavnom nalaze u kožici, peteljci i sjemenkama. Tanini imaju afinitet za proteine te uzrokuju njihovo zgrušavanje, a time i ubrzavaju bistenje i taloženje mošta i vina. Što je veća molekula polimera to je veći i afinitet za proteine. Taninske tvari mogu reagirati sa kisikom iz zraka,

čime započinje proces oksidacije i nastajanje tamno obojenih tvari. Crna vina sadrže više tanina od bijelih. U većim količinama tanini daju opor okus vinu (Mihovilović, 2016.).

Velika i raznolika grupa fenolnih tvari poznatiji kao flavonoidi odgovorni su za boju crnih sorta grožđa. Tako su antocijanini odgovorni za ružičastu, crvenu, plavu i ljubičastu boju povrća, voća, voćnih sokova i vina. Antocijani su flavonoidni polifenoli koji u prirodi dolaze u obliku antocijanina, odnosno glikozida pojedinih antocijanidina (aglikona). U vinu se nalazi pet osnovnih antocijanidina: malvidin, delphinidin, pentunidin, peonidin i cijanidin. Na stabilnost ovih pigmenata utjecaj imaju pH, temperatura, svjetlost, enzimi, kisik, koncentracija i struktura molekule. Antocijanini najviše pridonose antioksidativnoj aktivnosti u voću od ostalih flavonola, flavan-3-ola i fenolnih kiselina (Jakobek i sur., 2009).

Neke grupe žutih i svijetlih flavonoidnih pigmenata koji se mogu naći u biljkama uključuju flavonole, flavone, halkone, flavonide i izoflavonoide. Bez obzira što su mnoge od ovih tvari bezbojne, prilikom rukovanja i prerade mogu se promijeniti u obojene produkte. Iz tog razloga prilikom prerade se dodaju konzervansi kao antioksidansi ili kao antimikrobni agensi.

Ukoliko se jabuka konzumira sa kožicom, otpuštanje antioksidativne aktivnosti je više od 80%. (Zardo i sur., 2013.). Mnoge studije pokazale su da fenolni spojevi u namirnicama posjeduju pozitivne karakteristike poput antikarcinogenosti, antioksidativnosti, antimikrobnosti i antiviralnu aktivnost.

Mineralne tvari (pepeo)

Postupkom isparavanja vode i potpunog spaljivanja suhe tvari vrši se određivanje pepela u namirnici. Pepeo čine anorganske tvari vina koje ulaze u sastav vina. Pepeo u vinu sastoji se od kalcijevih, kalijevih i magnezijevih soli sumporne, fosfatne i karbonatne kiseline, te od tragova fluora, bakra, željeza, mangana i drugih elemenata. Bolju aromu vina i bouquet, te jače izražene sortne karakteristike grožđa imaju vina sa većom količinom mikroelemenata (Fe, Mn, Zn, Co, Ni) (Vrdoljak, 2009.).

Mineralne tvari u sirovinu dopijevaju iz zemljišta te čine sastavni dio iste, dok manji dio mineralnih tvari dolazi u vino prilikom prerade grožđa i njege vina (Zoričić, 2008). Količina pepela u vinu ovisi o sorti vinove loze, kakvoći i zrelosti grožđa, sastavu tla, mikro i makroklimatskim uvjetima te tehnologiji prerade grožđa u vino. Crna vina sadrže veće

količine pepela jer se tijekom fermentacije masulja ekstrahiraju veće količine mineralnih tvari iz čvrstih dijelova grožđa (Vrdoljak, 2009.).

Sadržaj mineralnih tvari u svježem voću je od 0,3 – 0,8 %.

Ekstrakt vina

Ukupni suhi ekstrakt ili ukupna suha tvar vina je skup svih organskih i mineralnih tvari sadržanih u vinu koje nisu hlapljive pod specifičnim fizikalnim uvjetima. U ekstrakt spadaju ugljikohidrati, nehlapive kiseline (vinska, mliječna, jabučna), mineralne tvari, glicerol, butilen, glikol, tanini i tvari boje (Vrdoljak, 2009.).

Ekstrakt u vinu može biti:

- Ukupni suhi ekstrakt kojeg čine svi sastojci vina koji nisu hlapivi pod specifičnim fizikalnim uvjetima,
- Nereducirani ekstrakt bez šećera, dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera u vinu,
- Reducirajući ekstrakt, dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera umanjen za 1 g ako je sadržaj šećera preko 1 g/L.

Vrsta, sorta, klimatski uvjeti te tehnologija prerade utječe na sadržaj ekstrakta u vinu. U pravilu južniji krajevi sa više sunčanih sati godišnje daju grožđe i vina sa više ekstrakta. Tako za neka vina možemo reći da su tankog i praznog ili punog i harmoničnog okusa. Crna vina bogatija su ekstraktom zbog većeg sadržaja tanina. Sukladno tome, više ekstrakta sadržavaju kvalitetna i vrhunska vina (Vrdoljak, 2009.).

Dušične tvari

Dušični spojevi u vino dolaze iz grožđa. Količina u prvom redu ovisi o bogatstvu tla dušičnim spojevima, zatim o zdravstvenom stanju grožđa (zdravije grožđe sadrži više dušičnih spojeva), o načinu prešanja (samotok sadrži manje dušičnih tvari od prešavine) (Zoričić, 1996.).

Spojevi sa dušikom se u moštu i vinu nalaze kao organski i anorganski spojevi. Mikroorganizmi u moštu koriste dušične tvari, te ih ugrađuju u svoje stanice tijekom rasta. Sukladno tome vino sadrži manje manje dušika što je posljedica ugradnje aminokiselinskog dušika u stanice kvasaca za fermentaciju. Mošt dobiven kontinuiranim prešanjem sadrži manje ukupnog dušika jer se proteini vežu i talože s taninskim tvarima.

Dušične tvari mogu utjecati na boju, aromu, bistroću i postojanost vina, iako se u vinu nalaze u malim količinama. Ukoliko se nalaze u većim količinama, mogu uzrokovati zamućenje vina, a k tome su i dobar izvor dušika bakterijama uzročnicima kvarenja vina (Vrdoljak, 2009.).

Koloidi vina

Koloidi su sluzave tvari vina, a čine ih proteini i pektinske tvari. Veličina čestica koloida je između 1 – 100 μm . Prisutnost koloida u vinu uzrokuje povećanje viskoznosti, opalesciranje, zamućenje vina i pojavu kataforeze (čestice posjeduju istovrstan naboj), te na taj način nepovoljno utječu na organoleptička svojstva vina.

Koloidne tvari dijele se na liofilne i liofobne. Liofilni koloidi imaju sposobnost vezivanja vode i povećanja kiselosti vina. Liofobni koloidi su jako osjetljivi na elektrolite, pri malim promjenama pH dolazi do njihove koagulacije. Uglavnom sadrže kompleksne spojeve željeza, fosfora i bakra (Vrdoljak, 2009.).



Slika 14 Koloidi u bijelom vinu (Web 14)

Proteini

Proteini su makromolekule građene od aminokiselina, a imaju važnu strukturalnu i funkcionalnu ulogu u svim živim organizmima. Molekularna masa proteina je oko 10 000. Proteini su vrlo nestabilni spojevi, u vinu se ponašaju kao koloidi sa pozitivnim električnim nabojem, a talože se sa taninima. Proteini u vinu potječu iz grožđa i iz kvasaca. Odumiranjem kvasaca proteini prelaze u vino.

Koagulirani proteini su (-) nabijene čestice. Proteini u vinu, posebno u bijelom vinu su nestabilni, te se spontano sporo talože. Nestabilnost mladih bijelih vina potječe od sadržaja veće količine koaguliranih proteina. Količina koaguliranih proteina u crnim vinima manji je problem iz razloga što se isti talože sa taninima. Razlog tomu je veći udio tanina u crnim vinima za razliku od udjela u bijelim vinima. (Vrdoljak, 2009.).

2.7. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM

Plinska kromatografija

Kromatografska analiza (grč. *chroma* – boja, *graphein* – pisati) upotrebljava se za odjeljivanje, identifikacija i kvantitativno određivanje kemijskih sastojaka u smjesama. Sastojci se raspodjeljuju između dviju faza, jedna faza je nepokretna (stacionarna), dok je druga pokretna (mobilna) i kreće se u određenom smjeru (Vrdoljak, 2009.).

Plinska kromatografija je najraširenija instrumentalna fizikalna metoda separacije. Kod plinske kromatografije, mobilna faza nalazi se u plinovitom stanju, a stacionarna faza je kruti adsorbens ili tekućina nanescena na kruti nosač (Primorac, 2007.). Uzorak je otopljen u pokretnoj fazi, koja može biti tekućina, plin, fluid u superkritičnim uvjetima, i kreće se uzduž nepokretne faze, koja može biti u koloni ili na ravnoj plohi (Primorac, 2007.). Uzorak se injektira na početak kromatografske kolone gdje isparava. Mobilna faza je inertni plin pomoću kojeg se provodi eluiranje. Odvajanje sastojaka na GC koloni uvjetovano je razlikom u njihovoj hlapivosti. Razdvajanje smjese hlapivih sastojaka odvija se naizmjenično adsorpcijom i desorpcijom lakše hlapivih sastojaka, djelovanjem plina nositelja (Vrdoljak,

2009.). Plin nosioci nema interakcija s analiziranim komponentama već služi isključivo kao transportno sredstvo (Primorac, 2007.).

Razdvajanje smjese hlapivih sastojaka odvija se naizmjenično adsorpcijom i desorpcijom lakše hlapivih sastojaka, djelovanjem plina nositelja (Vrdoljak, 2009.). U kromatografsku kolonu prilikom eluiranja, uvodi se određena količina ispitivane smjese strujom inertnog plina (plin nositelj). Prolaskom kroz kolonu, smjesa se razdjeljuje između nepokretne faze i struje plina nositelja (pokretna faza). Plin nositelj ispire iz kolone pojedine frakcije, pa su sastojci na taj način pomiješani samo sa plinom nositeljem, stoga je olakšano kvalitativno i kvantitativno određivanje komponenata (Vrdoljak, 2009.).

Plin nositelj

Plin nositelj mora biti kemijski inertan kako ne bi došlo do reakcije s uzorkom. Plin nositelj mora biti suh i pročišćen od nečistoća koje bi mogle dovesti do lošeg funkcioniranja uređaja ili raspadanja kolone, stoga se često je potrebno instalirati uređaje za pročišćavanje plina. Također, plin mora biti dovoljne gustoće kako bi se smanjila difuzija u plinskoj fazi. Kao plinovi nositelji najčešće se upotrebljavaju: helij (He_2), argon (Ar), dušik (N_2), ugljikov dioksid (CO_2) i vodik (H_2).

Izbor plina ovisi o: vrsti primijenjenog detektora, sigurnosnim mjerama, brzini i efikasnosti, mogućnosti nabave te o cijeni (Vrdoljak, 2009., Šeruga, 2010.).

Uređaj za unošenje uzoraka (injektor)

Da bi se u konačnici dobio dobar rezultat analize, uzorak se u sustav za analizu unosi brzo, u maloj količini, pomoću mikrolitarske štrcaljke, kroz gumenu ili silikonsku membranu u zagrijani dio uređaja koji je smješten na vrhu kolone. Kako bi isparavanje uzorka bilo potpuno, temperatura prostora gdje dolazi do rasprskavanja i isparavanja uzorka mora biti za 50 °C viša od temperature vrelišta najslabije hlapive komponente u uzorku (Primorac, 2007.).

Kromatografske kolone

Kolona koja se koristi za analizu od značajne je važnosti za uspješno provođenje analize. Kromatografska kolona je srce sustava, a čini ju cijev i nepokretna faza unutar nje, dok

pokretna faza prolazi kroz nju. Kolona se nalazi u termostatiranoj pećnici s mogućnošću zagrijavanja i kontrole temperature.

Osnovni zahtjev kod njenog odabira dobra selektivnost. Selektivnost kolone ovisi o izboru krutog nosača, punjenju kolone te vrsti i količini selektivne tekućine.

Kako bi razdvajanje uzorka plinskom kromatografijom bili dobro, selektivna tekućina mora biti:

- Selektivna i dobro otapalo za sve sastojke uzorka,
- Nehlapiva,
- Termički stabilna i pri povišenim temperaturama,
- Kemijski inertna prema sastojcima uzorka koji se analizira.

Kolone mogu biti građene od metala (čelik, bakar, aluminij), plastičnih masa, stakla i kvarca. Oblik kolone ovisi o prostoru i termostatu, a uglavnom su spiralno savijene.

Kolone se mogu prema načinu izvedbe podijeliti na preparativne i analitičke. Preparativne kolone imaju promjer od 10 mm i više, a duljinu do nekoliko metara, dok analitičke kolone mogu biti punjene (promjer 2 – 5 mm), mikropunjene (promjer 1 mm) i kapilarne (promjer 0.1 – 0.5 mm) (Vrdoljak, 2009., Šeruga, 2010.).

Detektori

Detektor je uređaj koji mjeri promjenu u sastavu eluata mjerenjem fizikalnih i kemijskih svojstava (toplinska vodljivost, radioaktivna i plamena ionizacija, kemijske reakcije, infracrvena i UV spektrometrija, spektrometrija masa, nuklearno – magnetska rezonancija i dr.). Detektor mora pokazati brz odziv na male promjene koncentracije sastojaka za vrijeme njihove elucije iz kromatografske kolone (Šeruga, 2010.).

Detektori, s obzirom na selektivnost, u plinskoj kromatografiji mogu biti:

- univerzalni – daju odziv za svaki sastojak u eluatu osim za čistu mobilnu fazu
- selektivni – daju odziv samo na određene grupe komponenata u eluatu (Primorac, 2007.).

Prednost se daje detektorima koji su osjetljivi prema što većem broju odjeljivanih sastojaka, brzo reagiraju i imaju široko područje linearnog odgovora, te se mogu upotrebljavati u širokom temperaturnom rasponu.

Spektrofotometrija masa

Spektrometri su instrumenti koji daju podatke o molekularnoj strukturi. Razlikuju se: infracrveni spektar (IC), spektar nuklearno – magnetske rezonancije (NMR), ultraljubičasti spektar (UV), spektar elektron – spinske rezonancije (ESR) i spektar masa.

Spektrometar masa je uređaj u kojem se molekule bombardiraju snopom elektrona bogatih energijom. Dolazi do ionizacije i cijepanja molekula u mnogo fragmenata, od kojih su neki pozitivno nabijeni ioni. Svaka vrsta iona ima određenu masu i naboj, odnosno određeni odnos m/e što je karakteristična veličina za tu vrstu iona. Niz iona se analizira na način da se dobije signal za svaku vrijednost m/e koja je prisutna. Intenzitet svakog signala prikazuje relativnu količinu iona koja daje taj signal. Osnovni signal je najviši signal ili maksimum (engl. peak). Intenzitet osnovnog signala označava se sa 100, te se obzirom na njegov intenzitet izražava intenzitet ostalih signala. Spektar masa je dijagram koji pokazuje relativne intenzitete signala za različite vrijednosti m/e . Za dokazivanje identičnosti dvaju spojeva i kao pomoć pri određivanju strukture novog spoja može poslužiti spektar masa. Dva spoja su identična ako su im jednake fizikalne konstante (talište, vrelište, gustoća).

U kombinaciji plinskog kromatografa i masenog spektrometra, plinskom kromatografijom se razdvajaju sastojci, a maseni spektrometar služi kao detektor (Vrdoljak, 2009.).

SPME analiza

Dugotrajna priprema uzoraka i upotreba organskih otapala, analitičke tehnike poput ekstrakcije tekuće – tekuće ili ekstrakcije na čvrstoj fazi nisu bile zadovoljavajuće učinkovite, te su Zhang i Pawliszyn 1993. godine razvili novu tehniku pripreme uzoraka poznatu kao mikroekstrakcija na čvrstoj fazi ili tzv. SPME (engl. solid phase microextraction) tehnika. Ova tehnika se sve više primjenjuje za pripremu čvrstih i tekućih uzoraka poput vina, piva, voća, ulja i meda.

SPME se sastoji od dvije odvojene faze, apsorpcije, prilikom koje dolazi do zaostajanja analita na stacionarnoj fazi i desorpcije. Za uspješan postupak obje faze moraju biti optimizirane. Na desorpciju utječu temperatura i vrijeme desorpcije, dok na ekstrakciju utječe tip uzorka, vrijeme ekstrakcije, ionska jakost, pH uzorka, temperatura ekstrakcije i mućkanje uzorka.

SPME analiza je tehnika koja se koristi za analizu širokog spektra hrane, prvenstveno iz razloga što zahtijeva manju manipulaciju ali i zato što je ekonomski prihvatljiva.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada bio je ispitati utjecaj količine oborina i broja sunčanih dana u tri uzastopne godine berbe na sadržaj aromatičnih spojeva, polifenola, flavonoida te antioksidacijsku aktivnost u tri bijela vina đakovačkog vinogorja Mandićevac (2011., 2012. i 2013. godina). Ispitivani uzorci vina su Graševina, Chardonnay i Traminac. U navedenim vinima bilo je potrebno odrediti sadržaj tvari arome pomoću tehnike GC/MS, primjenom SPME analize. Tvari boje, polifenoli i flavonoidi, kao i antioksidacijska aktivnost odredili su se spektrofotometrijski.

3.2. MATERIJALI I METODE

Analizirana vina

Analizirana su tri bijela vina u tri uzastopne godine berbe.

Tablica 1 Karakteristike analiziranog vina

Vinogradska regija:	Istočna Kontinentalna Hrvatska
Podregija:	Slavonija
Vinogorje:	Đakovačko
Sorta:	Graševina, Chardonnay, Traminac
Godina berbe:	2011., 2012., 2013.

Određivanje sadržaja polifenolnih spojeva

Koncentracija ukupnih fenola se određuje Folin-Ciocalteu metodom. Folin-Ciocalteu metoda temelji na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom, te mjerenjem nastalog intenziteta obojenja (apsorbance) pri valnoj duljini od 765 nm (Ough, & Amerine, 1988). Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfowolframove i fosfomolibden kiseline a pri oksidaciji fenolnih tvari ove kiseline se reduciraju u wolframov oksid i molibdenov oksid koji su plavo

obojeni. Folin-Ciocalteu reagens (1:10) pripremljen je tako da je otpipetirano 3,3 ml Folin-Ciocalteu reagensa u odmjernu tikvicu od 100 ml i do oznake dopunjeno s destiliranom vodom. Otpipetirano je 0,2 ml uzorka soka određenog razrijeđenja, te dodano 1,8 ml destilirane vode, 10 ml Folin-Ciocalteu reagensa te nakon stajanja 30 sekundi do 8 minuta dodano 8 ml 7,5 % Na_2CO_3 (ukupni volumen mora biti 20 ml). Za slijepu probu otpipetira se 2 ml destilirane vode u epruvetu, te doda 10 ml Folin-Ciocalteu reagensa i 8 ml 7,5 % Na_2CO_3 . Nakon stajanja u mračnom prostoru 2-20 sati, pri čemu dolazi do razvijanja boje, mjeri se apsorbanca na spektrofotometru pri valnoj duljini od 765 nm. Sadržaj polifenolnih spojeva je interpoliran pomoću kalibracijske krivulje galne kiseline i izražen u g galne kiseline/L uzorka.

Određivanje ukupnih flavonoida

Određivanje ukupnih flavonoida učinjeno je prema metodi Kim, Jeong i Lee (2003.) s modifikacijom (Blasa i sur., 2005., N.N. 96/03). Za kalibraciju su uzete različite koncentracije kvercetina (5-114 $\mu\text{g/mL}$), a linearnost je 0,9953 (R^2). Postupak određivanja vršio se tako što je 1 ml otopine vina (1 mg/mL) pomiješan s 0,3 ml NaNO_2 (5%), a nakon 5 min je dodano 0,3 ml AlCl_3 (10%). Uzorci su pomiješani te su nakon 6 minuta neutralizirani s 2 ml otopine NaOH (1M). Apsorbanca je izmjerena za sve uzorke pri 510 nm, a kvantifikacija izvedena koristeći kalibracijsku krivulju. Rezultati su izraženi u mg ekvivalenata kvercetina (QE) / 100 g vina, kao srednja vrijednost triju ponavljanja.

Određivanje antioksidativne aktivnosti

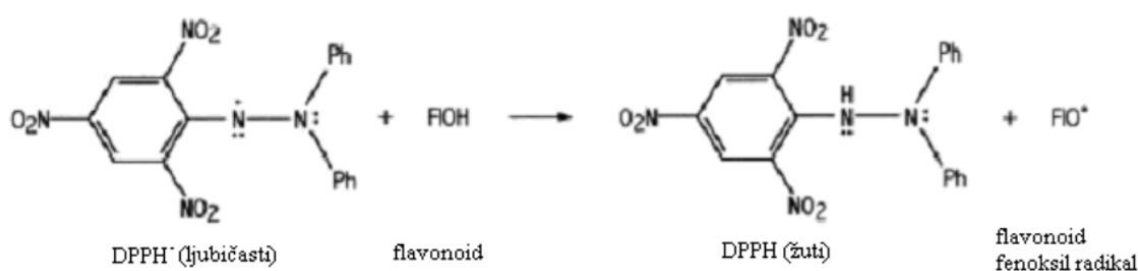
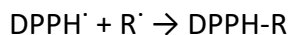
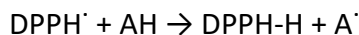
Glavni mehanizam djelovanja antioksidansa u hrani je uklanjanje radikala. Voće i povrće, kao jedna od važnijih komponenti uravnotežene prehrane, glavni su izvor antioksidanasa potrebnih ljudskom organizmu.

Nekoliko metoda je razvijeno za određivanje antioksidativne aktivnosti na osnovi uklanjanja sintetskih radikala u polarnom organskom otapalu (npr. metanolu) pri sobnoj temperaturi. One koje su najčešće, koriste 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) i 2, 2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-sulfonska kiselina) (ABTS) radikale.

Antioksidativna aktivnost je određivana primjenom 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) reagensa. Kod DPPH testa, uklanjanje DPPH radikala je praćeno smanjenjem absorbancije na

515 nm, do koje dolazi zbog smanjenja količine antioksidansa (AH) ili reakcije s radikalima (R^\cdot).

Prva reakcija s DPPH radikalima odvija se s nekom od fenolnih tvari, ali spora sekundarna reakcija može izazvati progresivno smanjenje absorbance, te se ravnotežno stanje ne može postići nekoliko sati.



Slika 15 Prikaz reakcije DPPH radikala s flavonoidima

Za određivanje antioksidativne aktivnosti primjenjena je metoda po Shimadu i sur. (1992.) s malim modifikacijama (Shimada i sur., 1992., N.N. 96/03). U kivetu je otpipetirano 0,2 mL uzorka, 2 mL metanola i 1 mL otopine DPPH. Reakcijska smjesa je ostavljena stajati 15 minuta te je absorbancija mjerena na spektrofotometru pri valnoj duljini od 517 nm. Za slijepu probu umjesto uzorka dodan je metanol.

Antioksidativna aktivnost je izračunata prema slijedećem izrazu:

$$aa (\%) = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) * 100$$

gdje je:

A_0 – absorbancija slijepe probe

A_1 – absorbancija uzorka.

Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize

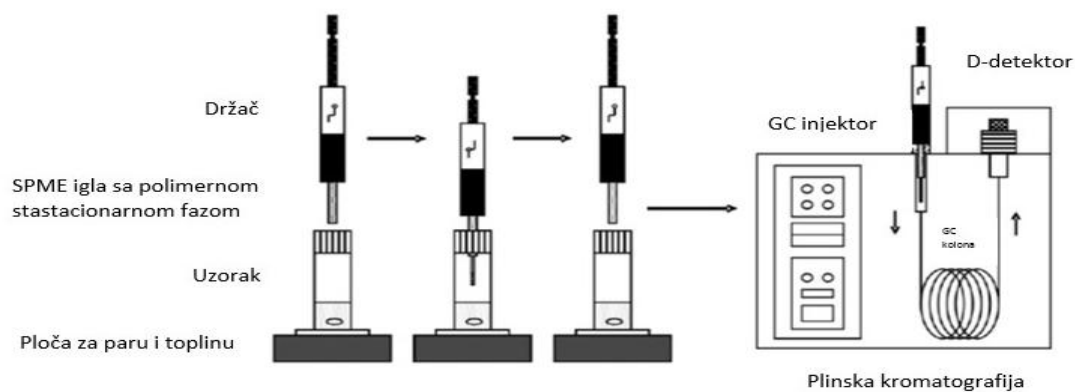
Priprema uzoraka za analizu:

Tehnika korištena prilikom pripreme uzorka je tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) za koju je neophodna SPME aparatura. Osnova SPME aparature je igla unutar koje se na polimernu stacionarnu fazu adsorbiraju aromatični sastojci. U radu je za pripremu uzoraka korišteno punilo od polidimetilsiloksana-divinilbenzena (polimerna stacionarna faza) debljine 65 µm.

Postupak pripreme uzorka:

U bočicu od 10 mL odvaže se 5 g uzorka vina. Kako bi adsorpcija aromatičnih sastojaka bila bolja dodaje se 1 g NaCl. U bočicu se ubaci magnet, te se hermetički zatvori teflonskim čepom. Bočica se postavi u vodenu kupelj, te se uz stalno miješanje uzorka magnetskom miješalicom, aromatični sastojci adsorbiraju na polimernu stacionarnu fazu unutar igle. Prije samog ispuštanja igle u nadprostor uzorka, uzorak se 5 minuta miješa na vodenoj kupelji (40 °C) radi zasićenja nadprostora sa svrhom što bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. Adsorpcija se provodi na temperaturi od 40 °C (vodena kupelj) u trajanju od 45 minuta. Po završetku adsorpcije igla s adsorbiranim sastojcima odmah se stavlja u injektor plinskog kromatografa te slijedi njihova toplinska desorpcija (**Error! Reference source not found.**).

Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka vina od jabuke provedeno je primjenom instrumentalne plinske kromatografije. U radu je korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 5890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5971A.



Slika 16 Korištenje SPME držača za uzorkovanje i analizu

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

Parametri ekstrakcije:

- Temperatura ekstrakcije: 40 °C
- Vrijeme ekstrakcije: 45 minuta
- Tip mikroekstrakcijske igle: 65 µm PDMS/DVB (Supelco).

GC-MS analitički uvjeti:

Kolona: HP5; 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Agilent)

- Početna temperatura: 40 °C (2 minuta)
- Temperaturni gradijent: 6 °C/min

Plin nosač: helij (čistoće 5,0) s protokom 1 mL/min pri 40 °C

- Konačna temperatura: 230 °C
- Temperatura injektora: 250 °C
- Temperatura detektora: 280 °C
- Desorpcija uzorka u injektor: 7 min

U izradi kromatografske analize korišten je splitless mod.

4. REZULTATI

Tablični prikazi rezultata

Tablica 2 Količina oborina na Đakovačkom području u 2011., 2012. i 2013. godini

Mjesec	Količina oborina (mm)		
	2011.	2012.	2013.
Siječanj	38,6	31,4	99,4
Veljača	27,3	59,6	92,1
Ožujak	38,0	0,6	65,7
Travanj	19,7	84,0	44,4
Svibanj	69,9	92,0	104,5
Lipanj	85,1	41,0	84,9
Srpanj	57,3	23,5	50,5
Kolovoz	6,1	6,0	58,8
Rujan	28,0	36,0	123,5
Listopad	27,3	95,0	55,5
Studen	2,8	59,2	81,9
Prosinac	92,3	113,6	3,4
Σ	492,4	641,9	864,6

Tablica 3 Broj sunčanih sati i dana na Đakovačkom području u 2011., 2012. i 2013. godini

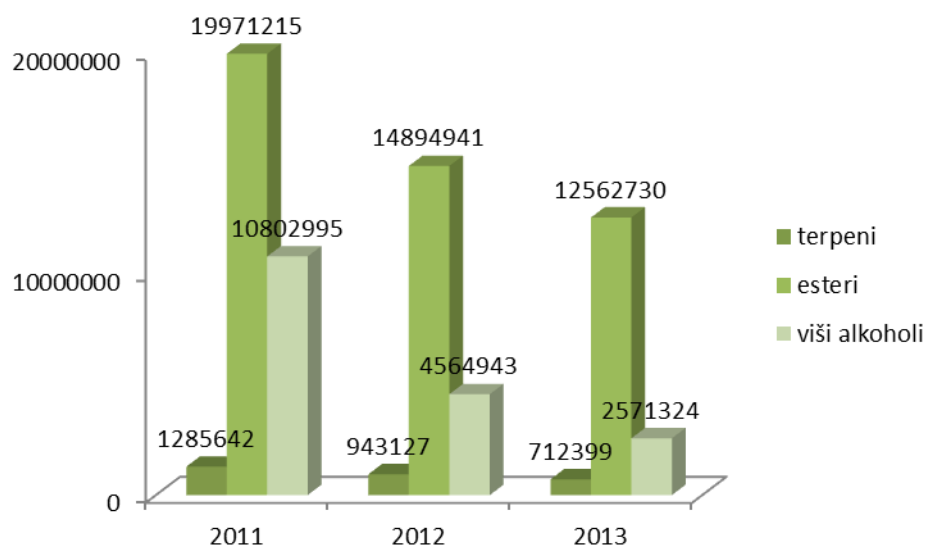
Mjesec	Broj sunčanih sati (h)		
	2011.	2012.	2013.
Siječanj	99,6	98,2	52,4
Veljača	68,0	62,7	43,0
Ožujak	221,3	218,8	115,1
Travanj	225,0	182,7	240,8
Svibanj	252,0	249,7	218,3
Lipanj	327,4	320,0	270,9
Srpanj	360,1	332,8	380,0
Kolovoz	355,7	354,4	280,5
Rujan	279,0	195,4	180,2
Listopad	160,0	145,0	180,4
Studen	91,5	92,1	90,8
Prosinac	74,7	65,0	84,7
Σ sati godišnje	2514,3	2316,8	2137,1
Mjesečni prosjek	209,52	193,06	178,09
Σ vedri i mješoviti dani godišnje	168	143	121

Tablica 4 Tvari boje u ispitivanim bijelim vinima

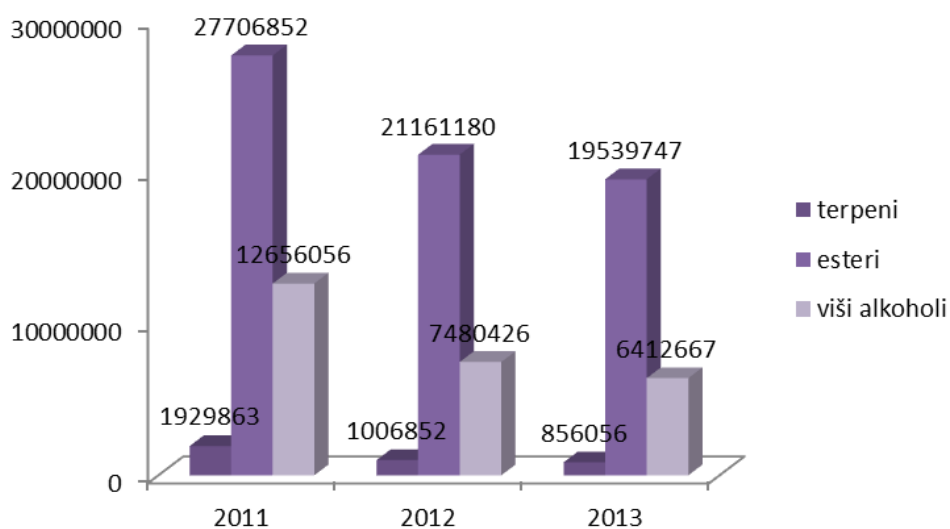
		Odabrana vina đakovačkog vinogorja		
		Chardonnay	Graševina	Traminac
Polifenoli(mg/L)	2011	495,85	515,33	493,91
	2012	272,36	338,16	265,82
	2013	247,31	333,48	260,12
Flavonoidi (mg/L)	2011	97,63	81,48	71,64
	2012	76,54	66,51	74,86
	2013	80,79	64,97	74,54
Antioksidacijska aktivnost(mmol/L)	2011	3,14	2,44	2,85
	2012	2,58	1,96	2,72
	2013	2,46	1,32	2,34

Tablica 5 Aromatični sastojci identificirani u tri ispitivana vina

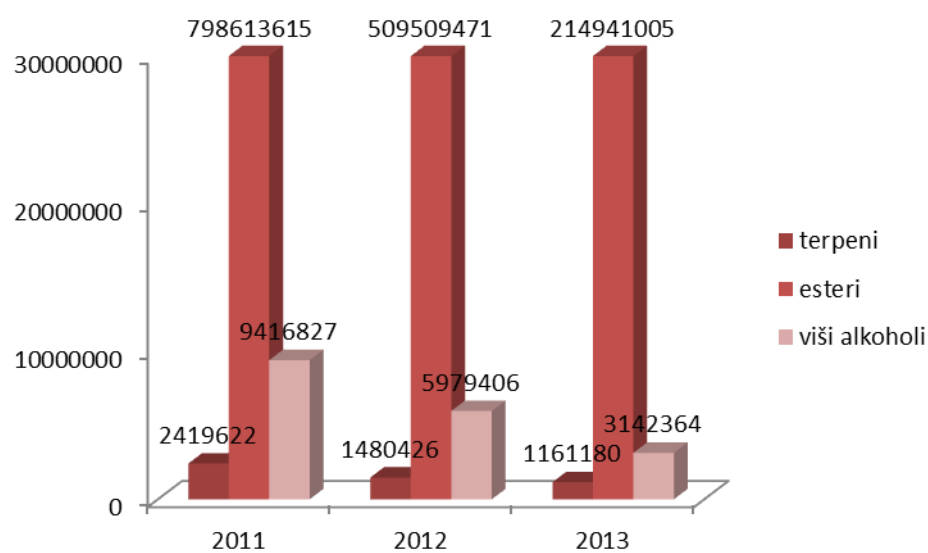
Sastojak	RT (vrijeme pojavnosti pika na kromatogramu)
Esteri	
Etil acetat	1,3756
n-butilacetat	2,3749
2-metil butirat	2,7735
3-metilbutil acetat	3,1259
Etil kaproat	5,6502
n-heksil acetat	6,0314
Metil-oktanoat	9,7226
Etil benzoat	11,4844
Etil kaprilat	12,5819
Etil fenilacetat	14,4881
Etil dekanat	20,8075
Izoamil kaproat	22,8466
Etil laurat	28,6982
Butil ftalat	41,4583
Izoamil acetat	3,0797
Kiseline	
Heksanska kiselina	5,0899
Kaprilna kiselina	12,1718
Dekanska kiselina	20,0624
Alkoholi	
1-butanol	1,4969
1-heksanol	2,9988
Etenil benzen stiroi	3,4205
1-oktanol	7,8048
Fenetil alkohol	9,3124
2-metil-1-propanol	1,3525
1-pentanol	1,6876
Aldehidi i ketoni	
Nonanal	8,9774
Dekanal	12,8765
5-fenil-2-pentanon	14,9734
heksanal	2,2599
4-oktanon	3,3401
Terpenoidi	
Linalool	8,81
Eugenol	19,1439
Beta damascenon	20,2530



Slika 18 Sadržaj terepena, estera i viših alkohola u vinu Graševina godine berbe 2011., 2012. i 2013.



Slika 19 Sadržaj terepena, estera i viših alkohola u vinu Chardonnay godine berbe 2011., 2012. i 2013.



Slika 20 Sadržaj terepena, estera i viših alkohola u vinu Traminac godine berbe 2011., 2012. i 2013.

5. RASPRAVA

Rezultati istraživanja utjecaja količine oborina i broja sunčanih dana u tri uzastopne godine berbe na sadržaj tvari boje i arome u bijelim vinima đakovačkog vinogorja Mandićevac prikazani su u **Tablicama 2, 3, 4 i 5** te na **Slikama 18, 19 i 20**.

Tablica 2 prikazuje količinu oborina na đakovačkom području u 2011., 2012. i 2013. godini, dok **Tablica 3** prikazuje broj sunčanih sati i dana na navedenom području u tri uzastupne, ranije navedene, godine.

Vinova loza je biljka koja ima više ili manje dubok sustav korijena i otporna je na sušu, ali ima određene zahtjeve u pogledu količine i rasporeda oborina u tijeku vegetacije radi postizanja kvalitetnijih uroda. Na području Đakova optimalne količine godišnjih oborina u vinogradarskoj proizvodnji iznose 650-850 mm, ako je raspored oborina povoljan. Oborine su kiša, magla, rosa, snijeg i led. Nedostatak i suvišak vode štetno utječu na razvoj vinove loze u pojedinim fazama razvoja. Više vlage je potrebno u fazi intenzivnog razvoja mladica i rasta bobica. Suvišna vlaga nepovoljno utječe na vinovu lozu u fazi cvatnje i oplodnje te u fazi dozrijevanja. Optimum za zračnu vlagu u vinogradu iznosi 70-80 %.

Rosa može povoljno utjecati na lozu u sušnim godinama, na toplim položajima i propusnim tlima, jer smanjuje ljetne visoke temperature i intenzitet transpiracije. Snijeg također povoljno utječe na lozu, jer tijekom zime štiti trsove od niskih temperatura. U **Tablici 2** prikazan je raspored oborina po mjesecima za 2011., 2012. i 2013. godinu. Godine 2011. i 2012. bile su s nešto manje oborina u odnosu na višegodišnji prosjek za đakovačko područje, dok je 2013. godina imala oborine iznad višegodišnjeg prosjeka.

Svijetlo ima veliki značaj u fiziološkom razvoju vinove loze, jer loza traži veliki broj sunčanih sati tijekom vegetacije i intenzivno osvjetljenje. Sunčevo svjetlo vrlo povoljno utječe na dozrijevanje i kvalitetu grožđa. Vinova loza je biljka dugug dana i traži intenzivno osvjetljenje i velik broj vedrih i mješovitih dana. Potreban broj sati osvjetljenja za vinovu lozu varira prema klimatskim područjima i svojstvima sorte te se kreće približno u granicama 1500 do 2500 sati, a potreban broj vedrih i mješovitih dana iznosi 130-170.

Količina i intenzitet svjetla koje dopire do listova i grozdova ovisi o razmaku sadnje, uzgojnom obliku i načinu rezidbe. Nadalje, na osvjetljenje utječu nadmorska visina, geografska širina, ekspozicija, inklinacija i smjer pružanja redova. U **Tablici 3** prikazan je broj

sunčanih sati i dana po mjesecima za 2011., 2012. i 2013. godinu. Sve tri ispitivane godine ulaze po broju sunčanih sati u višegodišnji prosjek za đakovačko područje.

U **Tablici 4** prikazan je sadržaj polifenola, flavonoida te antioksidacijska aktivnost ispitivanih vina đakovačkog vinogorja.

Fenolne tvari imaju zaštitnu ulogu u organizmu jer uklanjaju slobodne radikale i tako umanjuju njihovo štetno djelovanje. Udio fenola u vinu ovisi o svojstvima početne sirovine, odnosno grožđa koje se koristi za proizvodnju vina te ovisi o načinu proizvodnje istog. Glavni fenolni spojevi većine vina su fenolne kiseline, dihidrohalkoni i flavanoli. Fenoli su važni za izgled i okus vina, a time i njegovu kakvoću. O njihovom sadržaju ovisi gorčina i trpkost vina. Na udio fenolnih spojeva u grožđu utječu sorta, područje uzgoja i klimatski čimbenici tijekom vegetacije.

Najveća koncentracija polifenola u vinu Chardonnay (2011., 2012., 2013. godina) zamijećena je kod uzorka vina iz 2011., a najmanja kod vina iz 2013. godine. Isti trend slijede vina Graševina i Traminac. Budući je 2011. bila godina s najmanjom količinom oborina i najvećim brojem sunčanih sati, vina dobivena od grožđa koje je dozrijevalo u toj godini imaju i najveći sadržaj polifenola.

Iz rezultata u **Tablici 4** vidljivo je da je najveći sadržaj flavonoida također imali vino Chardonnay iz 2011. godine., a najmanje vino iz 2013. godine. Isti trend slijedi vino Graševina, dok je kod Traminca najveći sadržaj flavonoida zamijećen u 2012. godini.

Iz **Tablice 4** također je vidljivo da antioksidacijska aktivnost uzoraka slijedi trend porasta koncentracije flavonoida i polifenola kod vina Chardonnay i Graševina. Uzorak vina Traminac iz 2011. godine imao je najveću antioksidativnu aktivnost u odnosu na vina iste sorte iz 2012. i 2013. godine.

Aromu vina čini niz spojeva različitih vrsta i koncentracija koji nastaju u grožđu tijekom zrenja, a još više tijekom fermentacije i starenja. To su različiti esteri, viši alkoholi, masne kiseline, aldehidi, ketoni, terpeni i drugi spojevi. Kombinacija različitih aromatskih tvari važna je za oblikovanje okusa vina te se po istom ona razlikuju. Većina se aromatskih tvari iz grožđa izgubi tijekom prerade, tako da se glavnina arome oblikuje tijekom fermentacije i odležavanja vina. Viša temperatura fermentacije će proizvesti više estere tijekom

proizvodnje vina. Aroma ima značajnu ulogu u kakvoći vina, a hlapljive komponente su odgovorne za miris vina. Iz tog razloga jako je važno razumjeti doprinos svake komponente arome na kakvoću vina. Dobro poznavanje ključnih aromatičnih sastojaka može poboljšati tehnologiju prerade i konačnu kakvoću vina.

Kao što se može vidjeti iz **Tablice 5**, u vinima je identificirano trideset i tri aromatična sastojka. Radi boljeg prikaza pojedinih identificiranih aromatičnih sastojaka, sastojci su podijeljeni u pet skupina. To su esteri, kiseline, alkoholi, aldehidi i ketoni, kao i terpenoidi.

Od hlapljivih kiselina u analiziranim vinima identificirane su heksanska, kaprilna i dekanska kiselina. To su srednjelančane masne kiseline te čine bitnu komponentu arome vina. Njih sintetiziraju kvasci kao međuprodukte pri biosintezi masnih kiselina dugog lanca. Pojedinačne koncentracije ovih kiselina u vinu uglavnom ne prelaze senzorske pragove, ali u interakciji s drugim hlapljivim komponentama pozitivno utječu na njegove aromatske karakteristike (Rankie i sur., 1969). Dekanska kiselina nema tako velik utjecaj na ukupnu kvalitetu vina, ali ima važnu ulogu u složenosti sastava arome.

Alkoholi su aromatični spojevi koji nastaju kao sekundarni produkti metabolizma kvasca. U ispitivanim vinima identificirano je 7 alkohola. Iz **Slika 18, 19 i 20** vidljivo je da su sva tri ispitivana vina iz 2011. godine imala najveći sadržaj alkohola, dok su najmanji sadržaj alkohola imala vina iz 2013. godine.

Esteri su produkti reakcije acetil-CoA sa višim alkoholima koji nastaju degradacijom amino kiselina ili ugljikohidrata. Na **Slikama 18, 19 i 20** prikazan je udio estera u vinima Chardonnay, Graševina i Traminac tijekom tri uzastopne godine berbe. Sva tri vina imala su najveći sadržaj estera u 2011. godini. Može se primijetiti kako su etil-esteri masnih kiselina više prisutni od estera viših alkohola. To su etil acetat, izoamil acetat, heksil acetat. Veća prisutnost gore navedenih estera ukazuje na voćni miris analiziranog vina (Gomez - Miguez i sur., 2007). Etil acetat i izoamil acetat najviše utječu na ukupnu mirisnu notu ispitivanih vina te daju voćni miris.

Od aldehida i ketona u ispitivanim vinima nađeni su nonanal, dekanal, heksanal i dr.

Terpeni su kemijski spojevi karakteristični za aromatske sorte i glavni su nositelji primarnih ili sortnih aroma. Koncentracija tih sastojaka u vinu pored toga ovisna je još i o tehnološkom

postupku prerade i njege vina, te većeg broja drugih čimbenika kao što su maceracija, ekstrakcija, hidroliza, oksidacija, uporaba bentonita i pektolitičkih enzima.

Sadržaj terpenoida u vinima prikazan je na ***Slikama 18, 19 i 20***. Sva tri vina imala su najveći sadržaj terpena u 2011. godini. U vinima su nađeni linalool, beta damascenon i eugenol. Eugenol daje mirisnu notu klinčića, beta damascenon daje određenu mirisnu notu ruže, a linalool sudjeluje u stvaranju mirisne note proljetnog cvijeća.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Količina oborina je utjecala na sadržaj tvari boje i arome ispitivanih vina Chardonnay, Graševina i Traminac.
- Vina berbe 2011. imala su najveći sadržaj polifenola te antioksidacijsku aktivnost, jer je u 2011. godini na đakovačkom području pala najmanja količina oborina.
- Vina Chardonnay i Graševina, berbe 2011., imala su i najveći sadržaj flavonoida, dok je vino Traminac, berbe 2012., imalo najveći sadržaj istih.
- Broj sunčanih sati i dana također je utjecao na sadržaj tvari boje i arome ispitivanih vina.
- Budući da je najveći broj sunčanih sati i dana bio u 2011. godini, pogotovo od travnja do listopada, dakle u vrijeme vegetacije, i vina berbe iz navedene godine imala su najveći sadržaj tvari boje i arome.
- Sadržaj tvari arome slijedi trend porasta sadržaja tvari boje.
- Istraživanje je pokazalo da bez obzira na utjecaj količine oborina i broja sunčanih dana na sadržaj tvari boje i arome, veliki utjecaj na sadržaj istih imaju sorta i tijek alkoholne fermentacije.
- Od svih ispitivanih vina, bez obzira na godinu berbe, vino Traminac ima najveći sadržaj aromatičnih tvari u odnosu na ostala dva ispitivana vina. To je dokaz da i sorta ima veliki utjecaj na sadržaj tvari boje, jer Traminac pripada vrsti mirisnih vinskih sorata.
- Sva tri ispitivana vina pokazala su visoku antioksidacijsku aktivnost. To im daje ulogu zdravog pripravka u primarnoj prevenciji zdravlja ljudi jer pomaže u sprječavanju bolesti krvožilnog sustava i upalnih procesa u organizmu.
- U sva tri ispitivana vina nađen je veliki broj tvari arome.
- Razlike u dobivenim spojevima u funkciji „terroira“, ali i tijeka alkoholne fermentacije.

- Najveći sadržaj polifenolnih i aromatičnih spojeva imala su vina proizvedena 2011. godine.
- Sva tri ispitivana vina pokazala su se kao vrlo dobri antioksidansi.

7. LITERATURA

- Blasa M, Candiracci M, Accorsi A, Piacentini P M, Albertini M C, Piatti E: Raw Mille fiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chemistry* 97: 217-222, 2005.
- Cheynier V: Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81:223–229, 2005.
- Horvat B: *Od berbe do mladog vina*. Gospodarski list; prilog prema knjizi Zoričić M: *Domaće vino*. Novinarsko nakladničko i trgovačko d.d., Zagreb, 15. rujan 2010.
- Jakobek L, Seruga M, Seruga B, Novak I, Medvidovic- Kosanovic M: Phenolic compound composition and antioxidant activity of fruits of Rubus and Prunus species from Croatia. *International Journal of Food Science and Technology*, 44:860–868, 2009.
- Kähkönen M P, Hopia A I, Vuorela H J: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 47:3954–3962, 1999.
- Kim D O, Jeong S W, Lee C Y: Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81: 321–326, 2003.
- Maletić E, Karoglan Kontić J, Pejić I: *VINOVA LOZA - Ampelografija, ekologija, oplemenjivanje*. Školska knjiga, Zagreb, 2008.
- Mihovilović M: *Utjecaj procesnih parametara na zadržavanje tvari boje i arome vina od jabuke*. Diplomski rad, Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, 2016.
- Moreno J, Peinado R: *Enological Chemistry*. Academic Press, 2012.
- Muštović S: Vinarstvo sa enohemijom i mikrobiologijom; proizvodnja, kvalitet, kontrola od čokota do čaše. Privredni pregled, Beograd, 1985.
- MPS, Ministarstvo poljoprivrede RH: *Pravilniku o zemljopisnim područjima uzgoja vinove loze*. Narodne novine 74/12, 2012.
- MPS, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva RH: *Pravilnik o fizikalno - kemijskim metodama analize mošta, vina, drugih proizvoda od grožđa i vina te voćnih vina*, Narodne novine 96/03, 2004
- Ough CS, Amerine MA: *Phenolic Compounds. Methods for Analysis of Musts and Wines*. (2nd ed.). New York: John Wiley & Sons Inc., str.196-221, 1988.
- Primorac Lj: *Kontrola kakvoće hrane*. Interna skripta, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2007.
- Shimada K, Fujikawa K, Yahara, Nakamura T: Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 945–948, 1992.
- Stričević D, Sever B: *Organska kemija*. Profil International, Zagreb, 2001.

Šeruga M: *Instrumentalne metode I: GC - Plinska kromatografija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2010.

<http://studenti.ptfos.hr/Diplomski:studij/Instrumentalne:metode:I/IM1-04-GC.pdf>
(22.6.2017.)

Vrdoljak I: *Utjecaj membranske filtracije na aromu i kemijski sastav vina sorte Graševina*. Diplomski rad, Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, 2009.

WEB 1 http://www.enovine.net/zanimljivosti/i28/08iv02/08iv0230zan/vrste_vina.htm, pristupljeno 10.7.2017.

WEB 2

http://studenti.ptfos.hr/Diplomski_studij/Tehnologija_vina/Tehnologija_vina/Tehnologija_vina/mehani%C4%8Dki%20sastav%20grozda+bijela%20vina.pdf, pristupljeno 6.7.2017

WEB 3 <http://sspoljoprivrednoprehrambenapozega.skole.hr>, pristupljeno 6.7.2017.

WEB 4 <http://agrovizija.rs teme/vinogradarstvo.php?id=1375451768>, pristupljeno 6.7.2017.

WEB 5

https://www.google.hr/search?q=runjenje+i+muljanje+gro%C5%BE%C4%91a&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj0yqfv-fLUAhUKsxQKHekSBpkQ_AUIBigB&biw=1366&bih=613#tbm=isch&q=pre%C5%A1anje+gro%C5%BE%C4%91a&imgsrc=purZxRfuBLxtfM:-, pristupljeno 6.7.2017.

WEB 6

https://www.google.hr/search?q=runjenje+i+muljanje+gro%C5%BE%C4%91a&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj0yqfv-fLUAhUKsxQKHekSBpkQ_AUIBigB&biw=1366&bih=613#tbm=isch&q=membranska+filtracija+mo%C5%A1ta&imgsrc=WThbYqTZvle51M:-, pristupljeno 6.7.2017.

WEB 7

https://www.google.hr/search?q=etanol&hl=en&biw=758&bih=690&site=webhp&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj37XU9MLNAhUCLhoKHU9DBqoQ_AUIBigB#hl=en&tbm=isch&q=ethanol&imgsrc=zm8hJhYnyikyRM%3A-, pristupljeno 6.7.2017.

WEB 8 <http://www.ptfos.unios.hr/en/index.php/departmant-of-food-technologies/63-katedra-za-vinarstvo>, pristupljeno 6.7.2017.

WEB 9 <https://bs.wikipedia.org/wiki/Glukoza>, pristupljeno 10.7.2017.

WEB 10

https://www.google.hr/search?q=glukoza&espv=2&biw=758&bih=734&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjgq6v-78LNAhWIVRoKHczFDr0Q_AUIBiqB#tbn=isch&q=fruktoza+formula&imgsrc=bm-XX9qBOkoaeM%3A-, pristupljeno 6.7.2017.

WEB 11 https://hr.wikipedia.org/wiki/Jabu%C4%8Dna_kiselina, pristupljeno 10.7.2017.

WEB 12 https://hr.wikipedia.org/wiki/Limunska_kiselina, pristupljeno 10.7.2017.

WEB 13 http://www.wikiwand.com/bs/Vinska_kiselina, pristupljeno 10.7.2017.

WEB 14 <https://atelieruldevinuri.com/2016/05/18/winefacts-stabilizari-conditionari-si-alte-pregatiri-pentru-viitor/>, pristupljeno 6.7.2017.

Zardo D M, Marques Silva K, Guyot S, Nogueira A: Phenolic profile and antioxidant capacity of the principal apples produced in Brazil. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 64:611-620, 2013.

Zhang Z, Pawliszyn J: Headspace solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*, 64:1843-1852, 1993.

Zoričić M: *Kultura vina*. V.B.Z., Zagreb, 2009.

Zoričić M: *Podrumarstvo*. Globus, Zagreb, 1996.

